IMEVÄISIÄN RAVINNON YHTEYS SUOLISTOMIKROBISTON JA IMMUNOLOGISEN TOLERANSSIN MUODOSTUMISEEN

Törrönen Elli-Noora

Kandidaatin tutkielma

Ravitsemustiede

Lääketieteen laitos

Terveystieteiden tiedekunta

Itä-Suomen yliopisto

Elokuu 2020

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta
Kansanterveystieteen ja kliinisen ravitsemustieteen yksikkö
Ravitsemustiede
TÖRRÖNEN ELLI-NOORA K: Imeväisiän ravinnon yhteys suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostumiseen
Kandidaatin tutkielma, 35 sivua
Ohjaaja: Yliopistonlehtori, FT, dosentti Anu Ruusunen
Elokuu 2020

Avainsanat: Suolistomikrobisto, immunologinen toleranssi, imeväisikä, äidinmaito, kiinteät ruoat

IMEVÄISIÄN RAVINNON YHTEYS SUOLISTOMIKROBISTON JA IMMUNOLOGISEN TOLERANSSIN MUODOSTUMISEEN.

Suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostuminen ovat varhaislapsuuden aikana tapahtuvia, toisiinsa kytkeytyviä prosesseja, joihin imeväisiän (0–12 kk) aikainen ravitsemus vaikuttaa keskeisesti. Varhainen dysbioosi eli suolistomikrobiston epätasapainotila on yhdistetty useisiin erilaisiin elimistön häiriötiloihin ja sairauksiin. Näihin lukeutuvat esimerkiksi allergiat ja autoimmuunitaudit, joiden ilmaantuvuudet ovat kasvaneet nopeasti viimeisen 50 vuoden aikana, erityisesti länsimaissa. Selitystä ilmiölle on haettu muun muassa varhaislapsuuden mikrobikontaktien vähäisyydestä ja siitä johtuvasta immunologisen toleranssin puutteellisuudesta.

Tämän tutkielman tavoitteena oli kirjallisuuskatsauksen avulla selvittää suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin kehittymisen yhteyttä varhaislapsuudessa sekä selvittää imeväisiän ravinnon merkitystä näille prosesseille. Imeväisiän ravinnolla käsitetään äidinmaito ja sen korvikkeet sekä ensimmäisen elinvuoden aikana lapsen ruokavalioon tuodut kiinteät ruoat.

Kirjallisuuskatsauksen perusteella äidinmaidolla on suolistomikrobiston optimaalista kehitystä tukeva vaikutus ja immunologisia hyötyjä esimerkiksi varhaislapsuuden infektioriskin pienentämisessä. Äidinmaito sisältää runsaasti immuunijärjestelmän kehitystä ja immunologista toleranssia tukevia komponentteja, mutta sen rooli allergioissa ja autoimmuunitaudeissa on kuitenkin epäselvää ja tutkimusnäyttö on ristiriitaista. Kiinteiden ruokien aloitusiän merkitystä ruoka-allergioiden kehityksessä on tutkittu runsaasti. Varhainen allergeenisten ruokien, kuten maapähkinän, kananmunan, kalan ja vehnän aloitus noin 4–6 kk iässä voi pienentää allergiariskiä erityisesti korkean geneettisen alttiuden omaavilla lapsilla. Lisäksi kiinteiden ruokien lukumäärällä on merkitystä. Monipuolinen ruokavalio ensimmäisestä elinvuodesta lähtien voi ehkäistä lapsuusajan atooppista herkistymistä ja ruoka-allergioita.

Tämänhetkiset suomalaiset imeväisikäisten imetys- ja ruokasuositukset vastaavat hyvin kirjallisuuskatsauksessa esiin tullutta tutkimusnäyttöä. Lisää tutkimusta varhaisen ravinnon merkityksestä immunologisen toleranssin kehitykselle sekä suolistomikrobiston roolista kehittyvän immuunijärjestelmän ohjelmoijana tarvitaan.

SISÄLTÖ

1. JOHDANTO 4
2. SUOLISTOMIKROBISTO 5
2.1 Suolistomikrobiston muodostuminen 6
2.2 Suolistomikrobiston tehtävät 8
3. IMMUUNIJÄRJESTELMÄ 10
3.1 Limakalvoimmuniteetti 12
3.2 Immunologinen toleranssi 13
3.2.1 Sentraalinen toleranssi 14
3.2.2 Perifeerinen toleranssi 15
3.2.3 Oraalitoleranssi 16
3.2.4 Immunologisen toleranssin pettäminen 17
4. IMEVÄISIÄN RAVINNON YHTEYS SUOLISTOMIKROBISTOON JA IMMUNOLOGISEEN TOLERANSSIIN 19
4.1 Äidinmaito 19
4.1.1 Yhteys suolistomikrobistoon 20
4.1.2 Yhteys immunologiseen toleranssiin 21
4.2 Kiinteät ruoat 24
4.2.1 Yhteys suolistomikrobistoon 24
4.2.1 Yhteys immunologiseen toleranssiin 25
5. POHDINTA 28
6. JOHTOPÄÄTÖKSET 30
LÄHTEET 31

1. JOHDANTO

Suolistomikrobiston muodostuminen ja elimistön immuunipuolustukseen liittyvän immunologisen toleranssin kehittyminen ovat toisiinsa kytkeytyviä prosesseja, jotka tapahtuvat varhaislapsuuden aikana. Lapsen elämässä erityisesti ensimmäisten 3–4 elinvuoden katsotaan olevan kriittisiä aikaikkunoita mikrobiston sekä immunologisen toleranssin kehittymisessä (Gensollen ym. 2016). Ensimmäiset merkittävät määrät mikrobikontakteja saadaan välittömästi syntymän yhteydessä ja sen jälkeen (Kirjavainen ym. 2014). Suolistomikrobiston muodostumiseen vaikuttavat keskeisesti varhaislapsuuden elinympäristö ja ravinnon mukana tuleva antigeenialtistus. Varhainen dysbioosi eli suolistomikrobiston epätasapaino on liitetty useisiin patologisiin tiloihin ja mikrobiston kehityksen häiriintyminen varhaislapsuudessa saattaa lisätä riskiä sairastua muun muassa ruoka-allergioihin, atopiaan sekä astmaan (Tanaka ja Nakayma 2017).

Immunologisella toleranssilla tarkoitetaan elimistön kykyä säätää immuunivastetta siten, että elimistön omiin rakenteisiin tai harmittomiin komponentteihin ei reagoida (Pekkarinen 2015). Immunologinen toleranssi voidaan mieltää eräänlaisena immuunijärjestelmän kaksoisroolina riittävän tehokkaan sekä toisaalta tarpeeksi hillityn ja harkitun reagoimisen tasapainoiluna. Toleranssimekanismien pettäminen johtaa lisääntyneeseen infektioherkkyyteen, autoimmuunitauteihin tai allergioihin. Immunologinen toleranssi kytkeytyy keskeisesti suoliston alueella toimivaan immuunijärjestelmään, jonka tehtävänä on niin patogeenisten mikrobien tunnistaminen ja eliminoiminen, kuin myös suoliston mikrobiston, elimistön omien rakenteiden sekä vieraiden, mutta harmittomien molekyylien sietäminen (Huffnagle ja Noverr 2008).

Ruoka-allergiat ovat yleisempiä lapsuudessa kuin aikuisuudessa ja niistä kärsii jopa 10–15 % imeväis- ja leikki-ikäisistä suomalaislapsista (THL 2020). Oireet alkavat useimmiten kuuden kuukauden ikään mennessä mutta myös lievenevät tyypillisesti jo ennen kouluikää (Uusitupa ym. 2014). Sekä allergiat että autoimmuunitaudit ovat yleistyneet länsimaissa 50 viime vuoden aikana nopealla tahdilla, joka ei selity väestön geneettisellä muokkautumisella (Virtanen ja Savolainen 2011). Taustalla olevat syyt ovat todennäköisesti monitekijäisiä, mutta eräs yleisimmistä selitystä tarjoavista teorioista on alun perin David Strachanin (1989) esittämä hygieniahypoteesi, jonka mukaan modernin elämäntavan mukanaan tuoma ympäristön mikrobikontaktien sekä loistartuntojen määrän vähentyminen köyhdyttävät mikrobiston monimuotoisuutta. Tällöin varhaislapsuudessa kehittyvä immuunijärjestelmä ei saa

tarvitsemaansa ”koulutusta”, jolloin sen reaktiot voivat virheellisesti kohdistua elimistön omiin rakenteisiin tai ympäristön harmittomiin antigeeneihin.

Tässä tutkielmassa keskitytään erityisesti imeväisikäisten ravinnon, eli äidinmaidon tai sen korvikkeen sekä kiinteiden ruokien, merkitykseen suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostumisessa. Tiedonhaussa käytettyjä tietokantoja olivat UEF Primo, PubMed, Scopus ja Melinda ja hakusanoina toimivat muun muassa ”gut microb*”, ”infan*”, ”immune system”, ”immune tolerance”, ”complementary food*” ja ”human milk”. Imeväisikä (0–12 kk) on nopeaa kehityksen aikaa niin suoliston kuin elimistön immuunijärjestelmänkin kannalta ja varhainen ravitsemus tukee näitä prosesseja. Aikaisempaa tutkimusnäyttöä erityisesti rintaruokinnan merkityksestä suolistomikrobiston muodostumisessa on saatu jo viime vuosikymmenten aikana. Äidinmaidon immunologisilla yhdisteillä oletetaan olevan merkitystä lapsen immunologisen toleranssin kehittymisen kannalta ja on esimerkiksi saatu selville, että lapsi herkistyy äidinmaidon kautta äidin syömän ruoan yhdisteille, mikä auttaa lasta siedättymään näille ruoille (Field 2005). Äidinmaidon merkitys allergioiden, atopian ja autoimmuunitautien patogeneesille on kuitenkin edelleen epäselvä. Tutkimusnäyttöä myös imetyksen keston yhteydestä immunologiseen toleranssiin tarvitaan lisää.

Imeväisikäisten kiinteiden ruokien maisteluannosten aloittamista suositellaan 4–6 kk iässä (VRN ja THL 2019). Sekä liian varhaisella että viivästyneellä lisäruokien aloituksella epäillään olevan yhteys lisääntyneeseen kroonisten sairauksien, kuten allergian, tyypin 1 diabeteksen ja keliakian riskiin (Ruoka-allergia (lapset): Käypä hoito -suositus 2019). Kiinteiden ruokien aloitusajankohdan lisäksi merkittävä tutkimuskohde on niiden monipuolisuuden merkitys suolistomikrobistolle ja immunologiselle toleranssille, josta tarvitaan tulevaisuudessa lisää kattavaa tutkimusnäyttöä.

2. SUOLISTOMIKROBISTO

Suolistossa symbioosissa isäntäeliön eli ihmisen kanssa elävän mikrobiston merkitys terveyteen vaikuttavana itsenäisenä elimenä on ymmärretty vasta viime vuosikymmeninä, ja aihe on ollut intensiivisen tutkimuksen kohteena. Suolistomikrobisto koostuu enimmäkseen bakteereista, mutta myös muut mikrobeja, kuten virukset, arkit ja sienet kuuluvat mikrobistoon (Kirjavainen ym. 2014). Suolistomikrobiston paino on noin 1,5–2,5 kg ja mikrobeista yli 99,9 % sijaitsee paksusuolessa, jonka pH ja anaerobiset olosuhteet muodostavat ihanteellisen kasvu- ja elinalustan erityisesti useille bakteerisuvuille.

Suolistomikrobit osallistuvat useisiin erilaisiin tehtäviin ruoansulatuksessa, immuunipuolustuksessa ja metabolian säätelyssä (Kirjavainen ym. 2014). Suolistomikrobiston ja sen aineenvaihduntatuotteiden vaikutus ulottuu useisiin suoliston ulkopuolisiin elimiin ja niiden toimintaan. Löydettyjä toiminnallisia yhteyksiä suolistosta muihin elimiin ovat esimerkiksi suoli-aivoakseli, suoli-maksa-akseli ja suoli-ihoakseli, joten suolistomikrobiston merkitystä ihmisen terveydessä voidaan pitää hyvin kokonaisvaltaisena.

Mikrobisto kehittyy varhaislapsuudessa, jolloin se on hyvin dynaaminen ja altis elintavoissa ja -ympäristössä esiintyvälle vaihtelulle (Arrietta ym. 2014). Aikuisen ihmisen mikrobisto on yksilöllinen ja suhteellisen stabiili, jossa korkea lajidiversiteetti on terveyttä tukeva tekijä. Yhden lajin liikakasvu tai lajikato esimerkiksi antibioottien runsaan käytön seurauksena saattaa aiheuttaa suolistossa dysbioosin, joka on yhdistetty useisiin elimistön häiriötiloihin ja sairauksiin.

Ravinto on aikuisiällä merkittävin mikrobistoa muokkaava tekijä (Kirjavainen ym. 2014). Kliinisesti mikrobistoa on mahdollista muokata myös ulosteensiirrolla, jossa terveen ihmisen mikrobistoa siirretään sairaalle henkilölle. Lisäksi pre- ja probioottien käytöllä on omat mahdollisuutensa edesauttaa suolistomikrobiston terveyttä, mutta lisää tutkimusnäyttöä niiden merkityksestä terveyden edistämisessä tarvitaan lisää.

2.1 Suolistomikrobiston muodostuminen

Suolistomikrobisto muodostuu varhaislapsuudessa (Kirjavainen ym. 2014). Noin kolmen vuoden ikään asti mikrobisto on erittäin dynaaminen ja altis muutoksille (Arrieta ym. 2014). Mikrobiston muodostumisprosessissa voidaan katsoa olevan kaksi merkittävää muutosvaihetta ensimmäisen elinvuoden aikana (Tanaka ja Nakayama 2017). Ensimmäinen muutos tapahtuu välittömästi syntymän jälkeen rinta- tai korvikeruokinnan alkaessa ja toinen kiinteiden ruokien aloituksen yhteydessä. Lisäksi mikrobiston muodostumiseen vaikuttavat keskeisesti synnytystapa sekä elinympäristön tarjoamat mikrobikontaktit, kuten asuinympäristö, lemmikit ja sisarukset.

Vaikka mikrobisto muodostuu pääasiassa syntymän jälkeen, niin mikrobien kolonisaation uskotaan kuitenkin alkavan jo sikiöaikana (*in utero*), jolloin sikiö altistuu bakteereille, jotka ovat peräisin äidin mikrobistosta, mahdollisesti vaginan sekä suun ja suoliston bakteereista

(Tanaka ja Nakayama 2017, Milani ym. 2017, Butel ym. 2018). Butel ym. (2018) mukaan bakteerien DNA ja muut rakenteet voisivat laukaista varhaisia immuunireaktioita ja näin ollen ohjelmoida immuunijärjestelmän kehittymistä jo sikiöaikana. Kasvavasta tieteellisestä näytöstä huolimatta *in utero* -teoriaa on myös kyseenalaistettu ja sikiöaikaisen kolonisaation biologiseen relevanssiin liittyy epäselvyyksiä (Selma-Royo ym. 2019).

Synnytystapa vaikuttaa mikrobiston koostumukseen keskeisesti ensimmäisten elinkuukausien aikana (Butel ym. 2018). Alateitse syntyneillä lapsilla ensimmäiset mikrobikontaktit saadaan äidin vaginasta ja ulosteesta peräisin olevista mikrobeista. Erityisesti vaginassa on runsaasti *Lactobacillus* -sukuun kuuluvia lajeja, joilla uskotaan olevan mikrobiston suotuisaa kehitystä tukevia vaikutuksia. Keisarinleikkauksella syntyneillä lapsilla puolestaan ensimmäiset mikrobikontaktit saadaan pääasiassa äidin ja hoitohenkilökunnan iholta. Tutkimusnäyttö synnytystavan pitkäkestoisista vaikutuksista mikrobiston koostumukseen on kuitenkin ristiriitaista.

Rintaruokituilla lapsilla esiintyy imetysaikana vähäisempää mikrobiston monimuotoisuutta kuin korviketta saaneilla lapsilla (Davis ym. 2020). Rintaruokituilla lapsilla on enemmän *Proteobacteria* -sukuun kuuluvia lajeja ja vähemmän *Bacteroidetes* ja *Firmicutes* -sukuja. Lapsen alkaessa syödä kiinteitä ruokia, mikrobisto alkaa muistuttaa yhä enemmän aikuisen mikrobistoa ja yhteys mikrobiston koostumuksen ja ruokavalion välillä kasvaa.

Varhaisen antibioottien käytön on todettu häiritsevän mikrobiston normaalia kehitystä (Korpela 2016) ja varhaislapsuuden aikaisessa antibioottihoidossa tulisi kiinnittää erityistä huomiota hoidon tarpeellisuuteen sekä oikean, mahdollisimman kapeakirjoisen, antibootin valintaan.

Alapuolella (Kuva 1) on kuvattu keskeisimmät mikrobiston muodostumiseen vaikuttavat tekijät noin kolmen vuoden ikään mennessä.

Kuva 1. Suolistomikrobiston muodostuminen varhaislapsuudessa (mukailtu Tanaka ja Nakayma 2017). Mikrobien kolonisaatio alkaa todennäköisesti jo ennen syntymää, mutta merkittävimmät mikrobiston kehittymiseen vaikuttavat tekijät ovat syntymistapa, rinta- tai korvikeruokinta, antibioottien käyttö sekä kiinteät ruoat. Lisäksi elinympäristön mikrobikontaktit ja ruokavalion vakiintuminen muokkaavat mikrobistoa. Noin kolmen vuoden iässä mikrobiston koostumus alkaa muistuttaa aikuisen ihmisen mikrobistoa. Tällöin mikrobiston lajikirjon erojen perusteella voidaan erottaa kaksi pääenterotyyppiä, jotka ovat *Bacteroides* -valtainen ja *Prevotella*- ja *Firmicutes* -valtainen mikrobisto.

2.2 Suolistomikrobiston tehtävät

Suolistomikrobiston tehtävät liittyvät sulamattomien ravintoaineiden pilkkomiseen, immuunipuolustukseen, vierasaineiden eli ksenobioottien metaboliaan, suoliston mikroanatomiaan ja peristaltiikkaan sekä endokriinisten peptidien tuotannon säätelyyn (Kirjavainen ym. 2014). Lisäksi suolistomikrobisto osallistuu immuunipuolustuksen ja metabolian säätelyyn sekä syntetisoi osan joistakin elimistön tarvitsemista vitamiineista.

Suolistomikrobien fermentaatiotuotteet muodostavat noin 5–10 % elimistön käyttämästä kokonaisenergiasta (Kirjavainen ym. 2014). Pääosan bakteerien fermentaatioon käyttämistä substraateista muodostavat paksusuoleen päätyneet ravinnon imeytymättömät komponentit, kuten ravintokuitu, oligosakkaridit ja sokerialkoholit, imeytymättömät proteiinit sekä resistentti

tärkkelys. Yleisimpiä fermentaatiotuotteita ovat mikrobien substraateista riippuen vety, hiilidioksidi, lyhytketjuiset rasvahapot (eng. short chain fatty acid, SFCA) amiinit ja fenolit. Fermentaatiotuotteista lyhytketjuisia rasvahappoja, kuten butyraattia, pidetään terveydelle edullisina, sillä ne reagoivat suoliston limakalvon ja epiteelin imukudoksen kanssa ja niillä on myös epigeneettisiä vaikutusmekanismeja immuunijärjestelmän toimintaan (Vitetta ym. 2018).

Suolistomikrobistolla on merkittäviä immunologisia tehtäviä. Suolistomikrobit muun muassa osallistuvat suoliston epiteelisolukon muodostumiseen ja suoliston limakalvojen immuunipuolustuksen kehittymiseen varhaislapsuudessa (Arrieta ym. 2014). Aikuisiällä suolistomikrobit edesauttavat epiteelisolujen uusiutumista. Lisäksi ne ylläpitävät suoliston kolonisaatioresistenssiä ja mikroanatomiaa. Ruoansulatuskanavassa sijaitsee eniten lymfosyytteja kaikista elimistön kudoksista (Vickery ym. 2011) ja suolistomikrobisto vaikuttaa sekä pro- että anti-inflammatorisiin immuunireaktioihin (Round ja Mazmanian 2009). Suoliston alueella tuotetaan IgA-vasta-aineita jopa 5 g/vrk (Kirjavainen ym. 2014). Lisäksi suolistossa on runsaasti auttaja-T-soluja sekä säätelijä-T-soluja, jotka tuottavat sytokiineja, joiden tehtävänä on muun muassa hillitä tulehdusreaktioita. Tulehdusta voivat aiheuttaa esimerkiksi joidenkin gramnegatiivisten bakteerien hajoamistuotteina syntyvä endotoksiini, lipopolysakkaridi (LPS), joka saa systeemiseen verenkiertoon päästyään aikaan myös matala-asteista tulehdusta (Palva 2009).

Suolistomikrobit osallistuvat suoliston läpäisevyyden säätelyyn epiteelikudoksen ja sen limakalvon eheyden ylläpitämisen kautta (Kirjavainen ym. 2014). Suolistomikrobiston dysbioosi voi lisätä läpäisevyyttä ja aiheuttaa elimistössä systeemistä tulehdusta ravinnon suurten molekyylien tai suolistomikrobiston bakteerien päästessä vaurioituneen epiteelikudoksen apikaaliselta puolelta elimistöön (translokaatio). Suoliston läpäisevyyteen vaikuttaa keskeisesti myös ikä (Kantele ja Vaarala 2011). Vastasyntyneellä läpäisevyys on suurta, mutta se vähenee jo ensimmäisten elinpäivien aikana. Noin kolmen kuukauden ikään mennessä suoliston läpäisevyys on jo aikuisen tasolla (ns. gut closure).

Suoliston mikrobeilla on keskeinen rooli suoliston kolonisaatioresistenssiä ylläpitävänä tekijänä (Kirjavainen ym. 2014). Suolistomikrobit kilpailevat keskenään ravinnosta ja ekologisista lokeroista ja mikrobiston koostumukseen vaikuttaa keskeisesti ravinto ja muut ympäristötekijät sekä ikä. Vaikka ideaalista suolistomikrobiston koostumusta ei tiedetä, on varhaislapsuudessa erityisesti tietyillä bakteerisuvuilla, kuten bifidobakteereilla, todennäköisesti suurempi merkitys terveen immuunipuolustuksen kehittymisen kannalta kuin

lajikirjon monipuolisuudella (Zimmermann ym. 2019). Hiljattain tehdyssä systemaattisessa katsauksessa saatiin viitteitä siitä, että suurempi *Bacteroidaceae*, *Clostridiaceae* ja *Enterobacteriaceae* –lajien määrä sekä pienempi *Lactobacillus*- ja *Bifidobacterium* -sukujen määrä imeväisiässä ovat yhteydessä astmaan, ihottumaan ja allergiaan (Zimmermann ym. 2019). Bakteerien lisäksi tietyt sienilajit, kuten *Candida* ja *Rhodotorula*, voivat olla suolistoon kolonisoituessaan allergeenisia ja lisätä pro-inflammatoristen metaboliittien määrä (Fujimura ym. 2016).

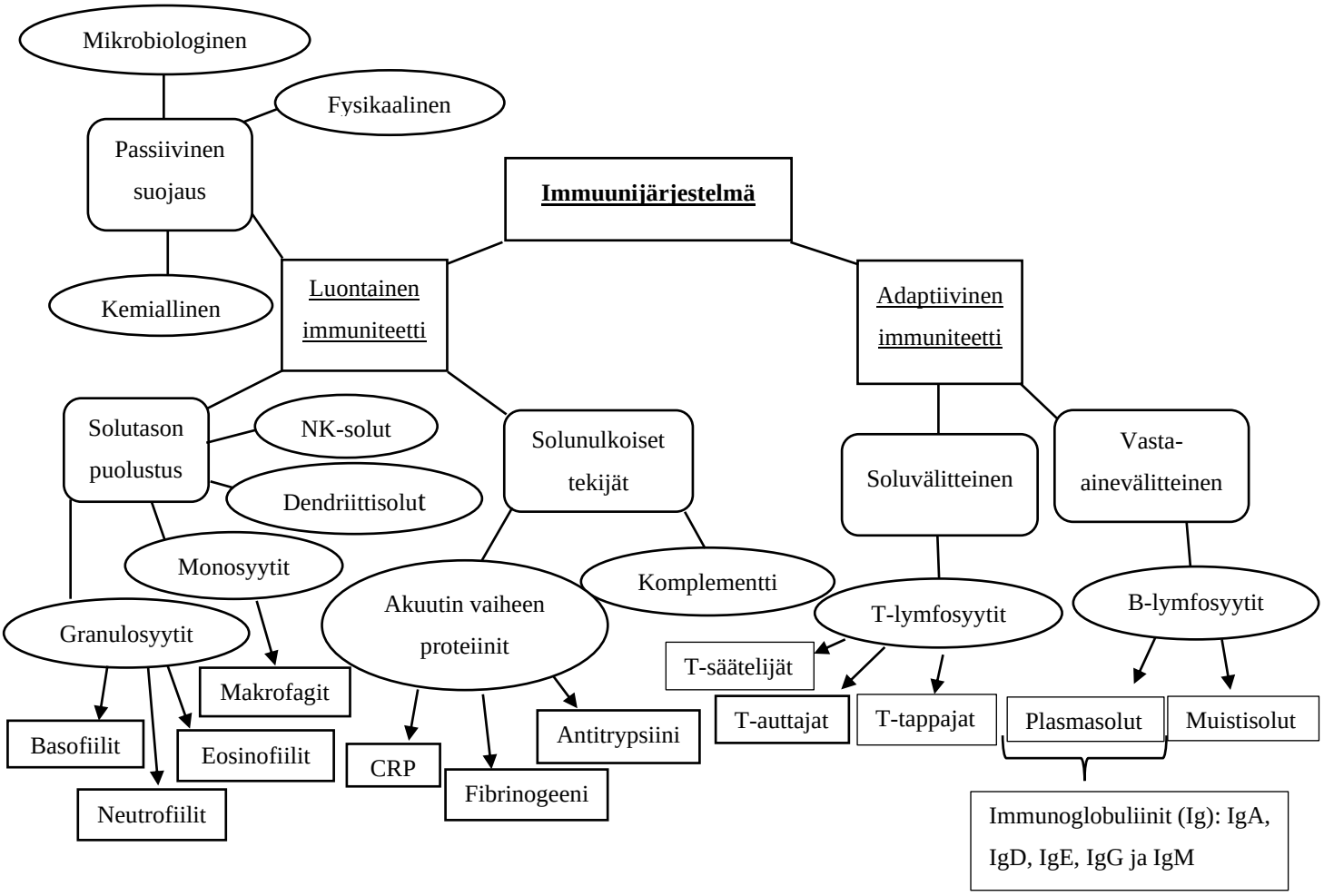
3. IMMUUNIJÄRJESTELMÄ

Elimistön immuunijärjestelmä on monimutkainen toiminnallinen kokonaisuus, jonka tehtävänä on tunnistaa ja eliminoida tauteja aiheuttavat patogeenit sekä osallistua homeostaasin ylläpitämiseen. Immuunijärjestelmä luokitellaan perinteisesti luontaiseen immuniteettiin sekä hankinnaiseen eli adaptiiviseen immuniteettiin (Meri 2011). Mikrobien suuren lajikirjon ja rakenteellisen monimuotoisuuden vuoksi immuunijärjestelmän täytyy kyetä reagoimaan niihin eri tavoin ja mahdollisimman tehokkaasti, minkä vuoksi luontainen ja hankinnainen immuniteetti toimivat pääasiassa yhteistyössä. Immuunijärjestelmän toiminnan on oltava dynaamista ja reaktioiden tarkoituksenmukaisia sekä oikein kohdistuneita.

Kaikilla eläimillä on syntymästä lähtien luontainen immuniteetti (Meri 2011). Se on nopeasti reagoiva ja ei-spesifinen. Luontaiseen immuniteettiin kuuluvat kudosten yleispuolustusmekanismit, eli niin sanottu passiivinen suojaus. Passiiviseen suojaukseen kuuluvat ne synnynnäiset fysikaaliset, kemialliset tai mikrobiologiset mekanismit, jotka estävät patogeenien pääsyä elimistöön, kuten ihon, silmän, keuhkojen ja suolen epiteelit sekä matala pH-arvo, entsyymit ja eritteet. Lisäksi luontaisen immuunijärjestelmän komponentteihin kuuluvat muun muassa syöjäsolut eli fagosyytit sekä luonnolliset tappajasolut eli NK-solut sekä noin kahdestakymmenestä proteiinista koostuva, ketjureaktiomaisesti toimiva komplementtijärjestelmä. Luontainen immuniteetti toimii tilanteissa, joissa ei vielä ole ehtinyt muodostua antigeenejä spesifisesti tunnistavia vasta-aineita tai T-soluja, kuten akuutissa tulehdusreaktiossa sekä tilanteissa, joissa adaptiivinen immuniteetti tarvitsee tehostusta tiettyjen rakenteiden eliminoimisessa. Luontaisen puolustuksen molekyyleillä on rajallinen kyky tunnistaa kohderakenteita, mikä vuoksi selkärankaisille on kehittynyt lisäksi spesifinen hankinnainen eli adaptiivinen immuniteetti. (Meri 2011)

Adaptiivinen immuniteetti jaotellaan soluvälitteiseen sekä vasta-ainevälitteiseen eli humoraaliseen immuniteettiin (Meri 2011, Sand ym. 2012). Soluvälitteisen immuniteetin soluja kutsutaan T-soluiksi ja vasta-ainevälitteisen immuniteetin soluja B-soluiksi. Antigeeniksi kutsutaan mitä tahansa molekyyliä tai rakennetta, jonka adaptiivinen immuniteetti tunnistaa ja joka saa aikaan immuunireaktion. Ensimmäisen antigeenikontaktin yhteydessä spesifisen immuunivasteen muodostumiseen kuluu aikaa noin 1–2 viikkoa (Meri 2011). B-solujen pinnan antigeenireseptorit eli vasta-ainemolekyylit voivat sitoa antigeenin suoraan, mutta T-solut kykenevät tunnistamaan antigeenin vain, jos se on sitoutunut toisen solun pinnalla olevaan kudostyyppimolekyyliin eli MHC-proteiinimolekyyliin (eng. Major Histocompatibility Complex) (Sand ym. 2012). MHC-molekyylit voidaan jaotella kahteen päätyyppiin, joista ensimmäistä eli MHC I-molekyylejä esiintyy kaikkien tumallisten solujen pinnalla ja MHC II -molekyylejä makrofagien, B-lymfosyyttien ja dendriittisolujen pinnalla. T-soluista tappaja-T-solut tunnistavat antigeenin, jos se esitellään MHC I-molekyyliin sitoutuneena ja auttaja-T-solut MHC II-molekyyliin sitoutuneena ja esiteltynä.

Elimistön imukudokset voidaan jakaa primaarisiin, sekundaarisiin ja tertiäärisiin kudoksiin (Salmi ja Meri 2011). Primaarisiin imukudoksiin kuuluvat luuydin ja kateenkorva, joiden tehtävänä on tuottaa kypsiä B- ja T-soluja leukosyyttien kantasoluista. B- ja T-solut kehittyvät ensin luuytimessä, kunnes erilaistumisvaiheessa B-solujen erilaistumisen jatkuessa luuytimessä, T-solut siirtyvät kypsymään kateenkorvaan. Sekundaarisiin imukudoksiin puolestaan kuuluvat imusolmukkeet, risat, perna, ruoansulatuskanavan imukudokset (GALT, gut-associated lymphoid tissues) sekä hengitys- ja virtsateiden limakalvojen imukudokset (MALT, mucosa-associated lymphoid tissues). Sekundaaristen imukudosten pääasiallisena tehtävänä on tuoda antigeeneja esittelevät solut sekä lymfosyytit yhteen, jotta adaptiivinen immuunivaste voi käynnistyä. Varhaislapsuuden jälkeen lähes kaikki lymfosyytit muodostuvat sekundaarisissa lymfaattisissa elimissä (Sand ym. 2012). Tertiääriset kudokset puolestaan käsittävät kaikki muut elimistön elimet ja kudokset, joihin voi kertyä lymfosyyttejä tulehdusreaktion aikana (Salmi ja Meri 2011).



Kuva 2. Immuunijärjestelmän rakenne ja tärkeimmät komponentit. Luontaisen immuniteetin merkittävimmät komponentit ovat kudosten yleispuolustusmekanismit eli niin sanottu passiivinen suojaus, solutason puolustuksen fagosyytit, luonnolliset tappajasolut eli NK-solut sekä solunulkoiset tekijät, kuten tulehdusreaktiossa toimiva komplementtijärjestelmä. Adaptiivisessa immuniteetissa puolustuksen keskiössä ovat soluvälitteinen T-lymfosyyttipuolustus sekä vasta-ainevälitteinen B-lymfosyyttipuolustus. B-solujen erikoistuneet plasmasolut tuottavat vasta-aineita eli immunoglobuliineja (Ig). Muistisolujen toiminta puolestaan mahdollistaa immunologisen muistin eli vasta-aineiden nopean ja määrällisesti suuremman tuotannon tunnetun antigeenin kohtaamisen yhteydessä. *NK-solut = *Natural Killer (NK) -solut,* luonnolliset tappajasolut *CRP = *C-reactive protein,* C-reaktiivinen proteiini

3.1 Limakalvoimmuniteetti

Limakalvot suojaavat niitä elimistön onteloita, jotka ovat yhteydessä ulkomaailmaan (Sand ym. 2012). Näihin lukeutuvat ruoansulatuskanava, hengitystiet, genitaalialue, virtsatiet, silmän sidekalvo sekä useiden rauhasten pinnat. Limakalvojen päivittäin kohtaama antigeenikuorma on suuri ja sen vuoksi limakalvoilla toimii itsenäinen, systeemisestä immuunijärjestelmästä erillään oleva puolustus (Kantele ja Vaarala 2011). Limakalvoilla on useita puolustautumiskeinoja, esimerkiksi limatuotanto, värekarvat, epiteelisolujen nopea uusiutuminen sekä hankinnainen immuunipuolustualts (Sand ym. 2012).

Limakalvojen imukudos voidaan jakaa eri osiin sen sijainnin perusteella (Kantele ja Vaarala 2011). Näihin osiin lukeutuvat suoliston (gut associated lymphoid tissue, GALT), keuhkoputkien (bronchus-associated lymphoid tissue, BALT) ja ylähengitysteiden (nasal-associated lymphoid tissue, NALT) lymfaattiset kudokset. Tässä tutkielmassa keskitytään erityisesti suoliston alueen paikalliseen immuunijärjestelmään, jossa immunologisen toleranssin merkitys on keskeinen.

Ruoansulatuskanavan alueen imukudoksiin kuuluvat nielurisat, kitarisat, umpilisäke, suoliston epiteelisolut, lamina propria sekä Peyerin levyt (Ahluwalia ym. 2017). Erityisen runsaasti lymfosyytteja on lamina propriassa, epiteelisolujen alaisessa löyhässä sidekudoksessa. Lamina propriassa on runsaasti myös luontaisen immuunijärjestelmän soluja, kuten eosinofiileja ja makrofageja.

Suoliston limakalvoille saapuvat antigeenit pääsevät kudokseen kolmella eri tavalla: tulehtuneen epiteelisolukon läpi, makromolekyylien hallittuun kuljettamiseen erikoistuneiden M-solujen (eng. microfold cells) läpi sekä ohutsuolessa dendriittisolujen kautta (Kantele ja Vaarala 2011). Suoliston, erityisesti ohutsuolen, tehtävänä on turvata makromolekyylien, ravintoaineiden ja kasvutekijöiden pääsy elimistöön mutta myös estää patogeenien pääsy elimistöön sekä tunnistaa suolen sisällön valkuaisaineita ja estää liialliset reaktiot niitä kohtaan (Ahluwalia ym. 2017).

3.2 Immunologinen toleranssi

Immunologisella toleranssilla tarkoitetaan immuunijärjestelmän reagoimattomuutta elimistön omiin rakenteisiin sekä harmittomiin vieraisiin rakenteisiin, kuten ruoan komponentteihin tai esimerkiksi siitepölyyn (Pekkarinen 2015). Immunologinen toleranssi on passiivisen reagoimattomuuden lisäksi myös aktiivista immuunireaktioiden supressiota (Hänninen 2011). Toleranssin merkitys korostuu erityisesti suoliston alueen immuunipuolustuksessa, sillä suolistoon saapuvien antigeenien määrä on valtaisa ja puolustukseen osallistuvien limakalvojen pinta-ala suuri.

Immunologinen toleranssi on ensisijaisesti hankinnaisen immuunijärjestelmän ominaisuus, mutta myös luontaisen immuunijärjestelmän komponentit vaikuttavat toleranssin muodostumiseen ja ylläpitoon (Pekkarinen 2015). Luontaisen immuunijärjestelmän osuudesta

toleranssin muodostumisesta tarvitaan vielä lisätietoa, mutta sen uskotaan olevan mahdollisesti kriittinen puuttuva osa toleranssin kokonaisvaltaisen ymmärtämisen ja lääketieteellisen soveltamisen kannalta.

Immunologinen toleranssi voidaan jakaa sentraaliseen ja perifeeriseen toleranssiin (Hänninen 2011). Sentraaliseen toleranssiin kuuluvat T-solujen kypsymisprosessissa tapahtuva positiivinen ja negatiivinen selektio, ja perifeeriseen toleranssiin puolestaan muun muassa naiivien eli antigeenia kohtaamattomien lymfosyyttien eristäminen kudosantigeeneista (Pekkarinen 2015). Immuunijärjestelmän komponenteista erityisesti antigeeneja esittelevillä dendriittisoluilla sekä säätelijä-T-soluilla on suuri merkitys immuunireaktioita vaimentavina tekijöinä esimerkiksi ruoan antigeeneja kohtaan (Vitetta ym. 2018). Dendriittisolut voidaan nähdä luontaisen ja hankinnaisen immuniteetin yhdistävinä toimijoina.

Immunologisen toleranssin muodostuminen varhaislapsuudessa ensimmäisten 3–4 elinvuoden aikana on merkittävä osa elinikäisen terveyden ylläpitoa (Gensollen ym. 2016). Suolistomikrobiston merkitys immunologisen toleranssin kehittymisessä on keskeinen. Suolistossa täytyy muodostua limakalvojen immuunijärjestelmään rajoittuva toleranssi omaa mikrobistoa kohtaan, jolloin systeeminen immuunijärjestelmä ei normaalitilanteessa huomioi mikrobien antigeeneja (Pekkarinen 2015). Varhaislapsuudessa oletetaan olevan ns. aikaikkunoita, jolloin altistuminen joillekin tietyille antigeeneille on erityisen tärkeää immuunipuolustuksen oikeanlaisen ohjelmoitumisen kannalta (Gensollen ym. 2016).

3.2.1 Sentraalinen toleranssi

Adaptiivisen immuunijärjestelmän T-solut ovat keskeisiä toimijoita immunologisen toleranssin muodostamisessa, sillä niiden erilaistuminen auttaja-T-efektorisoluiksi tai säätéleviksi T-soluiksi ohjaa koko immuunijärjestelmän toimintaa (Pekkarinen 2015). T-solut kehittyvät luuytimessä ja kypsyvät kateenkorvassa. Kateenkorvaan saapuvien esiasteisten T-solujen kypsymisprosessi alkaa geneettisellä rekombinaatiolla, jonka tuloksena saadaan hyvin monimuotoinen T-solupopulaatio. T-solujen kypsymisvaiheessa olennaista on niiden positiivinen selektio eli niiden solureseptorin toimivuuden testaaminen ja kehittyminen joko CD4-positiivisiksi (MHC II-molekyyliä tunnistaviksi) auttaja-T-soluiksi tai CD8-positiivisiksi (MHC I-molekyyliä tunnistaviksi) tappaja-T-soluiksi. Immunologisen toleranssin kannalta erityisen merkittävä vaihe on negatiivinen selektio, eli autoreaktiivisuuden testaaminen. Kateenkorvan epiteelisolut tuottavat AIRE-geenin mukaan testausta varten elimistön omissa

rakenteissa esiintyviä proteiineja. Ne T-solut, jotka antigeenin esittelyn tuloksena reagoivat kyseisiin proteiiniosiin, kuolevat apoptoottisesti. Kateenkorvaan saapuneista kypsyvistä T-soluista jopa 95 % päätyy apoptoosiin (Hänninen 2011). Kypsymisprosessista selviää kuitenkin myös sellaisia T-soluja, jotka ovat lievästi autoreaktiivisia, sillä kaiken autoreaktiivisuuden hävittäminen kaventaisi T-solupopulaation monimuotoisuutta ja täten reagoimiskykyä elimistön omia rakenteita muistuttaviin, mutta vieraisiin antigeeneihin (Pekkarinen 2015). Osa kateenkorvan T-soluista kehittyykin periferiassa muiden solujen toimintaa hillitseviksi säätelijä-T-soluiksi. Tämä tapahtuu transkriptiotekijä FOXP3:n ilmentämisen myötä. Mekanismin merkityksenä on minimoida negatiivisesta selektiosta läpi päässeiden autoreaktiivisten T-solujen uhkaa (Hänninen 2011).

B-solut läpikäyvät luuytimessä kypsyessään T-solujen kehitystä muistuttavan negatiivisen selektion, jossa solun antigeenireseptorin sitoutuminen ympäristön tarjoamiin proteiineihin johtaa apoptoosiin (Pekkarinen 2015). Lisäksi B-solujen autoreaktiivisuutta voidaan ehkäistä sen antigeenireseptorin muokkaamisella ja solun toiminnan lamauttamisella eli anergialla (Hänninen 2011).

3.2.2 Perifeerinen toleranssi

Perifeerisellä toleranssilla tarkoitetaan niitä mekanismeja, joilla säädellään kypsyneiden lymfosyyttien toimintaa kudoksissa (Pekkarinen 2015). Sentraalisen toleranssin rajoitteiden vuoksi perifeerisen toleranssin tehtäväksi jää hillitä autoreaktiivisia lymfosyytteja. Periferiassa heikosti autoreaktiiviset lymfosyytit inaktivoituvat, jos ne kohtaavat oman antigeenin ilman antigeeniesittelyä. Perifeerisen toleranssin tärkeimmät mekanismit ovat ignoranssi, anergia, deleetio ja aktiivinen säätely (Hänninen 2011).

Dendriittisolut ja niiden erittämät sytokiinit ovat keskeisessä asemassa CD4-positiivisten T-solujen erilaistumisessa Th1-, Th2- tai Th17-soluiksi (Pekkarinen 2015). Lisäksi myös komplementilla on osuus prosessissa. Th1-vaste on soluvälitteinen ja sopii esimerkiksi virusinfektioilta puolustautumiseen. Th2-vaste puolestaan liittyy humoraaliseen puolustukseen ja erityisesti B-lymfosyyttien IgE-vasta-aineen tuotantoon. Tällainen vaste soveltuu hyvin esimerkiksi loistartunnoilta puolustautumiseen, mutta on yhdistetty myös allergioihin. Th17-vaste on neutrofiilien toimintaa tukeva ja epiteelejä vahvistava. Puutteellinen Th17-vaste on yhdistetty krooniseen tulehdukseen ja suoliston läpäisevyyden lisääntymiseen (Tesmer ym.

2008). T-solujen erilaistuminen ei ole pysyvää, vaan solut voivat myös vaihtaa erilaistumista toiselle linjalle immuunivasteen edetessä (Pekkarinen 2015).

Suoliston limakalvojen immunologinen toleranssi perustuu korostuneeseen perifeeriseen toleranssiin ja etenkin säätelijä-T-solujen runsaaseen määrään ja toimintaan lamina propriassa (Pekkarinen 2015).

3.2.3 Oraalitoleranssi

Suolistomikrobiston keskeisestä merkityksestä immunologisen toleranssin synnyssä kielii ilmiö nimeltään oraalitoleranssi. Oraalitoleranssilla tarkoitetaan systeemisen immuunijärjestelmän reagoimattomuutta suun kautta tuleville antigeeneille (Huffnagle ja Noverr 2008). Oraalitoleranssi perustuu erityisesti säätelijä-T-solujen toimintaan, jotka saavat aikaan systeemisen Th1-vasteen inhibition ja limakalvojen pintojen suurentuneen IL-10:n, TGF-β:n ja IgA-vasta-aineen tuotannon. Verrattaessa siis oraalisesti ja parenteraalisesti saatavaa antigeenaltistusta elimistö muodostaa luontaisesti toleranssin ainoastaan oraalisesti saadulle antigeenille. Oraalitoleranssi on murtunut esimerkiksi ruoka-allergioissa, keliakiassa ja Chronin taudissa (Kantele ja Vaarala 2011).

Ikä on tärkeä oraalitoleranssin muodostumista säätelevä tekijä (Kantele ja Vaarala 2011). Imeväisiässä altistuminen antigeenille suun kautta johtaa immuunivasteen kehittymiseen ja myöhemmin suun kautta annettuna sietokyky samaa antigeenia kohtaan voimistuu. Suoliston mikrobit ovat oletettavasti keskeisessä asemassa toleranssin muodostamisessa, sillä useissa hiirillä tehdyissä eläinkokeissa on havaittu, että mikrobittomassa ympäristössä kasvaneille hiirille ei kehity oraalitoleranssia. Mikrobeista erityisesti *Lactobacillus*- ja *Bifidobacterium* -sukujen oletetaan olevan toleranssia tukevia.

Oraalitoleranssia on yritetty soveltaa lääketieteessä hoitokeinoksi autoimmuunitauteja kohtaan (oral immunotherapy, OIT), mutta toistaiseksi tulokset ovat olleet vaatimattomia (Kantele ja Vaarala 2011, Pekkarinen 2015, Sricharunrat ym. 2018). Osittain positiivisia tuloksia on saatu tyypin 1 diabeteksen suhteen, jossa potilaille tai heidän lähisukulaisilleen on annettu insuliinia oraalisesti, mutta johdonmukainen ja ristiriidaton näyttö hoitomuodosta on puutteellista (Sricharunrat ym. 2018). Oraalitoleranssin hyödyntäminen allergioiden hoidossa on ollut autoimmuunitauteja lupaavampaa, mutta siedätyshoitoajat ovat pitkiä (Pekkarinen 2015). Siedätyshoidon käypä hoito -suosituksen mukaan suun kautta annettu hoito maapähkinä-,

kananmuna- ja maitoallergiassa nostaa oirekynnystä, mutta ei pitkäaikaista sietokykyä ja haittavaikutukset ovat yleisiä (Siedätyshoito: Käypä hoito -suositus 2019).

3.2.4 Immunologisen toleranssin pettäminen

Toleranssin pettäminen johtaa immunologisiin sairauksiin, joista keskeisimpiä ovat autoimmuunitaudit ja allergiat (Pekkarinen 2015). Taustalla on usein altistavia geneettisiä tekijöitä mutta myös ympäristötekijöitä. Länsimaissa immunologisen toleranssin pettäminen on erityisen yleistä. Toleranssin pettämiseen johtavat tekijät ovat pitkälti epäselviä, mutta vastauksia on haettu esimerkiksi infektioiden sairastamisen vähäisyydestä, johon liittyy muun muassa harvojen loiskontaktien määrästä johtuva eosinofiilien herkistynyt aktivaatio sekä häiriintynyt T-soluvaste. Lisäksi ympäristön harmittomien antigeenien tarjonnan väheneminen ja yksipuolistuminen vaikuttavat mikrobiomin yksipuolistumisen kautta toleranssin kehittymiseen (ks. hygieniahypoteesi edellä). Nykykäsityksen mukaan juuri varhaislapsuuden mikrobikontaktit olisivat keskeinen tekijä toleranssin kehittymisen kannalta, eivätkä niinkään infektiot.

Autoimmuunitauteja on useita erilaisia, ja niistä osa on soluvälitteisiä ja osa vasta-ainevälitteisiä (Vaarala ym. 2011). Autoimmuunitaudit voivat olla luonteeltaan systeemisiä, kuten systeeminen lupus erythematosus (SLE) tai elinspesifisiä, kuten tyypin 1 diabetes. Systeemisissä autoimmuunitaudeissa elimistössä muodostuu autovasta-aineita omia rakenteita, kuten perintöaineksen kromatiinia ja histoneita kohtaan, kun taas elinspesifisissä sairauksissa autoreaktiivisuus kohdistuu tiettyyn elimeen, kuten tyypin 1 diabeteksessa haiman Langerhansin saarekkeiden insuliinia erittäviin beetasoluihin. Autoimmuunitautien etiologia on yleensä epäselvä, mutta geneettiset ja modifioivat tekijät, kuten elinympäristö, vaikuttavat puhkeamiseen. Lisäksi infektioilla epäillään olevaan rooli useissa autoimmuunitaudeissa, jolloin toleranssi on voinut murtua patogeenin ja samankaltaisen endogeenisen rakenteen, esimerkiksi jonkin proteiinin, ristiinreagoinnin kautta. Infektio voi erityisesti kroonisena ja subkliinisenä murtaa toleranssin.

Allergialla tarkoitetaan immunologisten mekanismien aiheuttamia yliherkkyysreaktioita tyypillisesti ympäristössä esiintyviä vaarattomia aineita, allergeeneja, kohtaan (Virtanen ja Savolainen 2011). Tyypillistä allergeeneille on, että ne pystyvät pieninäkin määrinä saamaan aikaan allergisen herkistymisen, mutta erityisesti iholla ja suolistossa suuremmatkin ainemäärät saavat mahdollisesti aikaan yliherkkyysreaktion. Allerginen reaktio on tyypillisesti hyvin

nopea, mikäli se tapahtuu limakalvolla tai verenkierrossa. Allergisen henkilön altistuessa allergeenille allerginen reaktio käynnistyy välittömästi minuuteissa välittäjäaineiden, kuten histamiinin, vapautuessa syöttösoluista. Oireilu ilmenee esimerkiksi allergisena nuhana, astmana tai ruoka-allergiana. Useimmat allergiat ovat IgE-välitteisiä. Allergiassa Th2-tyypin T-solujen aktivaatio ja sytokiinien IL-4 ja IL-13 eritys ohjaavat plasmasolujen IgE-tuotantoa. IL-4 ja IL-13 inhiboivat myös Treg-solujen toimintaa (Barni ym. 2020). Th1-aktivaatio puolestaan inhiboi IgE-tuotantoa muun muassa Th1-solujen erittämän IFNgamma-sytokiinin kanssa (Virtanen ja Savolainen 2011). Allergian voidaan katsoa olevan seurausta Th1 ja Th2-vasteiden epätasapainosta ja korostuneesta Th2-vasteesta. Taustalla olevat syyt ovat todennäköisesti sekoitus geneettisiä, etnisiä ja ympäristöstä peräisin olevia tekijöitä, joista jälkimmäiseen vaikuttaa erityisesti varhaislapsuus.

1980-luvun lopulla tutkija David Strachan havaitsi, että perheen sisaruksista nuorimmilla esiintyi vähemmän heinänuhaa kuin vanhemmilla sisaruksilla (Strachan 1989). Hän epäili ilmiön johtuvan siitä, että nuoremmat lapset ovat varhaislapsuutensa aikana altistuneet sisaruksiltaan välittyneisiin tauteihin. Näin ollen infektioiden sairastaminen ja patogeenisten mikrobien immuunijärjestelmää kouliva vaikutus saisi nuoremmat sisarukset vähemmän alttiiksi herkistymään allergeeneille. Havainto johti kuuluisan hygieniahypoteesin syntymiseen, mikä on sittemmin laajennettu koskemaan myöskin maantieteellistä ja muuta elinympäristöstä saatavaa mikrobialtistusta. Hygieniahypoteesi on tarjonnut selityksen allergioiden ja autoimmuunitautien nopealle yleistymiselle länsimaissa, jota ei voida selittää väestön geneettisellä muuttumisella (Virtanen ja Savolainen 2011).

Useimpiin autoimmuunitauteihin ja allergioihin on yhdistetty suolistomikrobiston dysbioosi (Le Doare ym. 2018). Astmaa sairastavilla lapsilla on merkitsevästi pienempiä määriä *Lachnospira-*, *Veillonella-*, *Faecalibacterium-* ja *Rothia* -lajeja, joita löytyy myös äidinmaidosta. Autoimmuunitaudeissa dysbioosia on todettu ainakin MS-taudissa, tyypin 1 diabeteksessa, nivelreumassa ja SLE-taudissa (Swartwout ja Luo 2018). Esimerkiksi MS-tautia sairastavilla on havaittu terveisiin ihmisiin verrattuna pienempiä määriä *Prevotella* ja *Lactobacillus* -sukuja (Liu ym. 2018). Lisäksi *L. reuteri* probioottilisän havaittiin lisäävän MS-potilaiden mikrobiston monimuotoisuutta ja vähentävän Th1- ja Th17-vasteisiin liitettyjen sytokiinien pitoisuuksia seerumissa ja suolistossa. Probioottien tehoa on tutkittu runsaasti myös imeväisikäisillä muun muassa ripulin, infektioiden, allergioiden, nekrotisoivan enterokoliitin ja keskosilla esiintyvän sepsiksen ehkäisyssä tai hoidossa (Selma-Royo ym. 2016). Yleisesti tutkittuja probiootteja ovat olleet muun muassa *Lactobacillus rhamnossus GG*, *Saccharomyes*

boulardii -hiiva sekä jotkin *Lactobacillus*- ja *Bifidobacterium* -sukuihin kuuluvat bakteerit. Positiivisia tutkimustuloksia imeväisikäisillä on saatu erityisesti antibioottiripulin hoidossa sekä nekrotisoivan enterokoliitin ehkäisyssä useita kantoja sisältävillä probioottivalmisteilla (Vitetta ym. 2018). Lisäksi Uusitalo ym. (2016) havaitsivat, että ensimmäisen elinvuoden aikana annetulla muun muassa *Bifidobacterium*- ja *Lactobacillus* -sukuja sisältävällä probioottilisällä oli yhteys pienempään tyypin 1 diabeteksen puhkeamisriskiin korkean geneettisen riskin omaavilla lapsilla. Probioottien tehosta tarvitaan kuitenkin lisää tutkimusnäyttöä ja niiden mahdolliset vaikutukset allergioiden ja autoimmuunitautien ehkäisyssä ja hoidossa ovat toistaiseksi epäselviä.

4. IMEVÄISIÄN RAVINNON YHTEYS SUOLISTOMIKROBISTOON JA IMMUNOLOGISEEN TOLERANSSIIN

Imeväisikäisten (0–1v.) ravinnolla käsitetään äidinmaito tai sen korvike sekä ensimmäisen elinvuoden aikana lapsen ruokavalioon tuodut kiinteät ruoat (VRN ja THL 2019). Sekä äidinmaito että kiinteiden ruokien aloitus muokkaavat lapsen mikrobistoa ja vaikuttavat immunologisen toleranssin muodostumiseen. Aikaa syntymästä noin kuuden kuukauden ikään on kirjallisuudessa kutsuttu kriittiseksi aikaikkunaksi immuunijärjestelmän ja suolistomikrobiston kehitykseen liittyen (Pannaraj ym. 2017, Tanaka ja Nakayma 2017, Le Doare ym. 2018), sillä dysbioosilla tämän aikaikkunan aikana voi olla pitkäaikaisia terveyteen vaikuttavia seurauksia.

4.1 Äidinmaito

Äidinmaito tai äidinmaidonkorvike on lapsen pääasiallista ravintoa noin kuuden kuukauden ikään asti ja täysimetyksen suositus Suomessa on 4–6 kk (VRN ja THL 2019). Maailman terveysjärjestö WHO:n suositus täysimetykselle on 6 kk (WHO 2018).

Äidinmaito kattaa vauvan ravitsemukselliset tarpeet noin 6 kk ikään asti (VRN ja THL 2019). Tämän lisäksi äidinmaidolla ja imetyksellä on useita terveyshyötyjä niin lapselle kuin äidille. Osa äidinmaidon terveysvaikutuksista lapselle välittyy sen vaikutuksista suolistomikrobiston kehitykselle. Lisäksi äidinmaito sisältää lisäksi runsaasti bioaktiivisia yhdisteitä, kuten oligosakkarideja, nukleotideja, lysotsyymejä, immunoglobuliineja ja muita immuunijärjestelmän soluja ja viestiaineita, jotka vaikuttavat lapsen immuunijärjestelmän

kypsymiseen sekä lapsen metaboliseen ja kognitiiviseen kehitykseen (Castanys-Muñoz ym. 2016).

4.1.1 Yhteys suolistomikrobistoon

Äidinmaidolla on voimakkaasti bifidogeeninen eli bifidobakteerien kasvua suolistossa edistävä vaikutus (Kirjavainen ym. 2014). Äidinmaidon määrällisesti suurimmat komponentit ovat laktoosi (70 g/l), lipidit (40 g/l), oligosakkaridit (5–15 g/l) sekä proteiini (8 g/l) (Zivkovic ym. 2011). Oligosakkaridien määrä on huomattava ja ne ovatkin äidinmaidon merkittävin bifidogeeninen tekijä. Oligosakkarien lisäksi äidinmaidossa on runsaasti muitakin bidifobakteerien kasvua edistäviä tekijöitä, kuten vähäinen puskurivaikutus, laktoferriini, nukleotidit, gangliosidit ja suhteellisen vähäinen rauta- ja proteiinipitoisuus (Kirjavainen ym. 2014). Bifidobakteerit estävät tehokkaasti suolistoinfektioita ja niillä on mahdollisesti merkitystä immuunipuolustuksen kehittymisessä. Bifidobakteerit pysyvätkin rintaruokituilla lapsilla vallitsevana bakteerisukuna kiinteiden ruokien aloittamiseen asti.

Äidinmaidon bifidobakteerien kasvua edistävän vaikutuksen lisäksi se sisältää myös itsessään bakteereja, jotka voivat kolonisoitua lapsen suolistoon (Pannaraj ym. 2017). Äidinmaidon bakteerien alkuperä on kuitenkin mysteeri, mutta on erään hypoteesin mukaan ainakin osa bakteereista voisi olla peräisin äidin suolistosta, josta bakteerit siirtyvät dendriittisolujen mukana rintarauhaseen imukudoksen ja verenkierron kautta (Le Doare ym. 2018). Bakteerien translokaation mahdollisuus äidin suolistosta rintarauhasiin on herättänyt mielenkiintoa äidin ruokavalion vaikutuksesta äidinmaidon bakteerikoostumukseen, mutta aiheesta tiedetään toistaiseksi vähän. Padilha ym. (2019) tutkivat poikkileikkaustutkimuksessa äidin raskauden ja imetyksen aikaisen ruokavalion yhteyttä äidinmaidon bakteerikoostumukseen. Tutkimuksessa havaittiin, että raskaudenaikaisella C-vitamiinin saannilla ja ensimmäisen imetyskuukauden aikaisella monityydyttymättömien rasvahappojen saannilla oli suotuisia vaikutuksia äidinmaidon bakteerikoostumukselle ja oletettavasti myös lapsen kehittyvälle suolistomikrobistolle ja immuunijärjestelmälle, sillä ne lisäsivät *Bifidobacterium*- ja *Staphylocuccus* -sukujen määrää äidinmaidossa. Aiheesta tarvitaan kuitenkin lisää kattavaa tutkimusnäyttöä niin raskausajalta kuin myös pidemmältä imetysajalta.

Korvikemaidolla ruokittujen vauvojen suolistomikrobiston on todettu eroavan rintaruokittujen lasten mikrobistosta (Castanys-Muñoz ym. 2016). Korvikkeella ruokittujen lasten mikrobisto on koostumukseltaan monimuotoisempi ja sisältää enemmän *Bacteroides*-, *Colostrium*- ja

Enterobacteriaceae -sukuja sekä vähemmän *Bifidobacterium*- ja *Lactobacillus* -sukuja, kuin rintaruokittujen lasten mikrobisto. Korvikemaitoihin lisätyillä pre- ja probiooteilla on mahdollisesti hyödyllisiä vaikutuksia korvikkeella ruokittujen lasten suolistomikrobiston koostumukselle (Vitetta ym. 2018). Prebiooteista frukto-oligosakkarideilla ja fruktaaneilla, kuten inuliinilla on bifidogeeninen vaikutus suolistossa. Ashley ym. (2012) havaitsivat, että korvikeruokituilla vauvoilla, jotka saivat prebioottilisää, oli pehmeämpää ulostetta ja heidän mikrobistonsa muistutti enemmän rintaruokittujen vauvojen mikrobistoa kuin verrokkiryhmällä. Samankaltaisia tuloksia saivat aikaisemmin myös Ziegler ym. vuonna 2007 julkaistussa satunnaistetussa kontrolloidussa tutkimuksessa (randomized controlled trial, RCT).

4.1.2 Yhteys immunologiseen toleranssiin

Äidinmaito sisältää useita bioaktiivisia aineita, jotka vaikuttavat lapsen immuunijärjestelmän kehittymiseen. Synnytyksen jälkeinen ensimaito eli kolostrum sisältää erityisen paljon vasta-aineita, syto- ja kemokiineja, kasvutekijöitä, hormoneja ja laktoferriiniä, jotka tukevat vastasyntyneen immuunipuolustuksen kehittymistä ja suojaavat infektioilta (Le Doare ym. 2018). Lisäksi lapsi herkistyy äidinmaidon kautta myös äidin nauttiman ravinnon antigeeneille, mikä tukee immunologisen toleranssin muodostumista (Field 2005).

Äidinmaidon merkitys immunologisen toleranssin kehittymiselle tapahtuu todennäköisesti useiden eri mekanismien kautta, joista yksi keskeinen on lapsen kehittyvä suolistomikrobisto. Rintaruokittujen lasten bifidobakteerivaltainen mikrobisto ei todennäköisesti ole sattumaa, vaan bifidobakteereilla on useita kehittyvälle immuunipuolustukselle edullisia vaikutuksia. Ne esimerkiksi estävät tehokkaasti varhaislapsuuden suolistoinfektioita (Kirjavainen ym. 2014). *Bifidobacterium* -suvun lisäksi äidinmaidon *Lactobacillus* -suvun bakteerien on osoitettu lisäävän Th1-tyypin makrofagien ja sytokiinien, kuten IL-1, IL-12 ja TNF-alfan tuotantoa (Le Doare ym. 2018). Rintaruokituilla lapsilla on todettu imeväisiän yli kestäviä tehokkaampia Th1-vasteita ja immunomodulatiivisia ominaisuuksia kuin korvikeruokituilla lapsilla. Lisäksi äidinmaidossa joidenkin yleisesti esiintyvien *Lactobacillus* -bakteerien on todettu *in vitro* vaikuttavan T-lymfosyyttien sekä NK-solujen aktivaatioon ja näin ollen hankinnaisen immuunijärjestelmän toimintaan.

Suhteellisen tuore ja immuunijärjestelmän kehittymisen kannalta mielenkiintoinen löydös ovat äidinmaidon sisältämät solunulkoiset vesikkelit ja niiden proteiinit (Le Doare ym. 2018). Vesikkelit sisältävät muun muassa lähetti-RNA-, mikro-RNA- sekä sytosoli- ja

kalvoproteiineja. Solunulkoiset vesikkelit vaikuttavat mahdollisesti vastasyntyneen suoliston kehittymiseen muun muassa epiteelin muodostumisen ja uusiutumisen kautta. Lisäksi ne vaikuttavat useisiin immuunijärjestelmän osa-alueisiin esimerkiksi tehostamalla Tollin kaltaisten reseptorien toimintaa ja bakteerien fagosytoosia sekä vahvistamalla hankinnaisen immuunijärjestelmän säätelijä-T-solujen toimintaa. Solunulkoisia vesikkeleitä on erityisen runsaasti äidinmaidossa ensimmäisen 6 kuukauden aikana synnytyksestä, joka on kriittisintä aikaa myös immuunijärjestelmän kehitykselle. Tutkimusta solunulkoisista vesikkeleistä ja niiden merkityksestä immuunijärjestelmän kehittymiselle tarvitaan kuitenkin lisää.

Äidinmaidon merkitys autoimmuunitautien puhkeamiselle on epäselvää. On olemassa näyttöä siitä, että äidinmaito voisi ehkäistä keliakiaa vahvistamalla oraalista toleranssia autoantigeeni gliadiinille (Walker 2010). Pitkä imetysaika on myös yhteydessä pienempään tyypin 1 diabeteksen riskiin (Garcia-Larsen ym. 2018). Äidinmaidolla on mahdollisesti myös muita tyypin 1 diabetekselta suojaavia vaikutuksia sen sisältämien bioaktiivisten, immuunijärjestelmään vaikuttavien molekyylien, kuten insuliinin, oligosakkaridien ja laktoferriinin kautta (Yahaya ja Shemishere 2020).

Imetyksen merkitystä allergioiden ja infektioiden riskiin on tutkittu viime vuosina eri puolella maailmaa (Taulukko 1). Tutkimusnäyttö on edelleen ristiriitaista erityisesti imetyksen keston ja allergioiden ilmaantuvuuden suhteen. Viiden kohorttitutkimusten mukaan äidinmaidolla ja imetyksellä on suojaavia vaikutuksia erityisesti ensimmäisen elinvuoden infektioita, astmaa ja mahdollisesti myös allergioiden muodostumista kohtaan (El-Heneidy ym. 2018, Han ym. 2019, Mathias ym. 2019, Davisse-Paturet ym. 2020, Matsumoto ym. 2020). Näissä tutkimuksissa ei kuitenkaan pystytä osoittamaan syy-seuraussuhdetta imetyksen keston ja allergia- tai astmariskin pienemisessä.

Taulukko 1. Tutkimuksia äidinmaidon ja imetyksen yhteydestä allergia-, astma- tai infektioriskiin.

Viite (maa)	Tutkimus	N	Tutkimusasetelma	Tärkeimmät tulokset
El-Heneidy ym. 2018 (Australia)	Milk Other Than Breast Milk and the Development of Asthma in Children 3 Years of Age. A Birth Cohort Study (2006–2011)	1121	Prospektiivinen kohorttitutkimus	3-vuotiaat lapset, jotka olivat saaneet muuta maitoa, kuin äidinmaitoa ensimmäisen 6 kk aikana, omasivat suuremman riskin astman puhkeamiselle kuin pelkästään äidinmaitoa saaneet lapset.
Han ym. 2019 (Etelä-Korea)	Long-term Breastfeeding in the Prevention of Allergic Rhinitis: Allergic Rhinitis Cohort Study for Kids (ARCO-Kids Study)	1374	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Pitkäkestoinen imetys (yli 12 kk) oli lyhytkestoiseen imetykseen (alle 6 kk) verrattuna tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä alentuneeseen allergisen nuhan ilmaantuvuuteen.
Mathias ym. 2019 (Yhdysvallat)	The association of infant feeding patterns with food allergy symptoms and food allergy in early childhood	1387	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Lapset, jotka olivat saaneet sekä äidinmaitoa että korvikemaitoa ennen 3 kk, olivat suuremmassa riskissä kokea 6 v. ikäisinä ruoka-allergioiden oireita kuin pelkästään 3 kk äidinmaitoa saaneet lapset.
Davisse-Paturet ym. 2020 (Ranska)	Breastfeeding initiation or duration and longitudinal patterns of infections up to 2 years and skin rash and respiratory symptoms up to 8 years in the EDEN mother–child cohort	1603	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Imetys oli yhteydessä vähäisempään ripulin esiintymiseen imeväisikäisillä sekä epäsäännölliseen keuhkoputkentulehdusten ja korvatulehdusten ilmaantumiseen kahden vuoden ikään asti. Pidempiaikaisia merkitseviä tuloksia ei kyetty selkeästi osoittamaan.
Matsumoto ym. 2020 (Japani)	Breastfeeding and risk of food allergy: A nationwide birth cohort in Japan	46,616	Retrospektiivinen kohorttitutkimus	Imetyksellä oli ennalta ehkäisevä vaikutus ruoka-allergioiden ilmaantuvuuteen niillä lapsilla, jotka olivat korkean riskin ryhmässä. Pitkittynyt täysimetys (yli 6–7 kk) puolestaan lisäsi ruoka-allergiariskiä.

4.2 Kiinteät ruoat

Suositeltu kiinteiden ruokien aloitusikä Suomessa on 4–6 kk iässä (VRN ja THL 2019). WHO:n vastaava suositus on 6 kk (WHO 2020). Kiinteisiin ruokiin tutustuminen aloitetaan pehmeärakenteisina tai soseisina maisteluannoksina äidinmaidon tai korvikkeen pysyessä kuitenkin vielä lapsen ensisijaisena ravintona. Lapsen yksilölliset neuromotoriset valmiudet kiinteiden ruokien nauttimiseen tulee huomioida aloitusajankohdassa.

Kiinteiden ruokien roolia immuunijärjestelmän kehittymisessä tutkitaan edelleen. Kiinteiden ruokien aloitusajalla ja niiden lukumäärällä on mahdollisesti merkitystä immunologisen ja kliinisen toleranssin muodostumisessa ruoka-aineita kohtaan. Varhaisilla maisteluannoksilla (noin 4 kk iässä) voi olla merkitystä allergiariskin pienentämisessä erityisesti korkean geneettisen allergiariskin omaavilla lapsilla.

4.2.1 Yhteys suolistomikrobistoon

Kiinteiden ruokien aloitus on yksi merkittävimmistä lapsen mikrobistoa muokkaavista tekijöistä varhaislapsuudessa. Jo noin kolmen kuukauden ikään mennessä lapsen suoliston läpäisevyys alkaa olla aikuisen ihmisen tasolla ja suolisto on valmiimpi ottamaan vastaan kiinteää ruokaa. Kiinteiden ruokien seurauksena pääasiassa vielä bifidobakteerivaltaisen suolistomikrobiston koostumus monipuolistuu ja alkaa vähitellen muistuttamaan aikuisen mikrobistoa. Suvut, kuten *Clostridium*, *Bacteroides* ja *Ruminoccus* alkavat lisääntyä mikrobistossa.

Ruokavalion vakiintuminen kiinteiden ruokien monipuolistuessa ja jäädessä pysyviksi imetyksen loppumisen jälkeen vaikuttaa siihen, mitkä lajit jäävät todennäköisemmin dominanteiksi mikrobistossa (Tanaka ja Nakayma 2017). Esimerkiksi länsimainen, runsaasti eläinproteiinia ja tyydyttynyttä rasvaa sisältävä ruokavalio saa mikrobistossa aikaan *Bacteroides* -dominantin mikrobiston ja puolestaan runsaasti hiilihydraatteja sisältävä ruokavalio *Firmucutes*- ja *Prevotella* -sukujen dominoivan mikrobiston. Erityisesti *Prevotella* -dominantin mikrobiston on yhdistetty olevan yleisempi kehittyvien maiden lapsilla, kun taas *Bacteroides*- ja *Firmicutes* -dominantteja mikrobistoja tavataan yleisemmin kehittyneempien, tyypillisesti länsimaisten maiden lapsilla.

4.2.1 Yhteys immunologiseen toleranssiin

Kiinteiden ruokien aloituksella on merkittävä rooli immunologisen toleranssin kehittymisessä, erityisesti ruoka-allergioiden suhteen. Pienillä maisteluannoksillakin on merkitystä lapsen immuunipuolustuksen koulimisessa ja ruoka-ainetoleranssin muodostamisessa. Kiinteiden ruokien sisältämät ravintokuidun hajoamistuotteet ja n-3-rasvahapot toimivat suolistomikrobiston metaboliatuotteiden kautta myös immunomodulaattoreina (Kirjavainen ym. 2014).

Niin sanotuilla välttämisruokavalioilla on pitkä historia allergioiden ennaltaehkäisyssä 1980- ja 1990-luvuilta lähtien, jotka on sittemmin 2000-luvulla hylätty tehottomina (Barni ym. 2020). Välttämisruokavalioiden ideana on minimoida allergiariski yleisiä allergeeneja kohtaan pyrkimällä välttämään niiden kulutusta täysin. Välttämisruokavalioiden tilalle on tullut lähes päinvastainen teoria siitä, että yleisten allergeenien aikainen tuominen (noin 4 kk iässä) lapsen ruokavalioon voisi ehkäistä allergioiden kehittymistä vahvistamalla lapsen immunologista toleranssia kyseisille allergeeneille.

Kirjallisuudesta löytyy näyttöä siltä, että kiinteiden ruokien lukumäärä ennemmin kuin niiden aloitusaika olisi yhteydessä vähentyneeseen allergiariskiin. Suomalaistutkimuksessa (Nwaru ym. 2014) havaittiin, että ne lapset, joille oli tarjottu monipuolisemmin erilaisia ruokia 6 kk ja 12 kk ikäisinä, sairastivat vähemmän allergista nuhaa ja astmaa viiden vuoden iässä kuin lukumäärällisesti vähemmän eri ruokia saaneet. Samankaltaisia tuloksia raportoivat Roduit ym. (2014), joiden mukaan ensimmäisen vuoden ruokavalion monipuolisuus korreloi negatiivisesti ruoka-allergioiden ja astman kehittymisen kanssa. Tutkimuksessa havaittiin, että niillä lapsilla, joiden ruokavalio oli ensimmäisenä elinvuonna vähemmän monipuolinen, esiintyi 6-vuotiaina merkitsevästi vähemmän FOX3P-transkriptiotekijän ilmentymistä, mikä on välttämätön säätelijä-T-solujen kehitykselle ja näin ollen keskeistä immunologisen toleranssin muodostumisessa.

Allergiariski on yleisin kiinteiden ruokien yhteydessä tutkittu immunologisen toleranssin ilmiö, mutta myös autoreaktiivisuudesta on oltu kirjallisuudessa kiinnostuneita. Suosittu tutkimuskohde on ollut tyypin 1 diabeteksen puhkeamisen yhteys ravintotekijöihin, erityisesti lehmänmaidon kulutukseen. Ekologisissa tutkimuksissa on löydetty yhteys varhaislapsuuden runsaan lehmänmaidon kulutuksen ja erityisesti A1-maidon sisältämän beetakaseiinin kanssa

(Chia ym. 2017). Syy-seurausyhteyttä lehmänmaidon kulutuksen ja tyypin 1 diabeteksen välille ei kuitenkaan ole saatu osoitettua ja taudin taustalla olevat syyt ovat todennäköisesti monitekijäisiä. Autoimmuunitaudeista on lisäksi tutkittu keliakiaa ja sen puhkeamisen yhteyttä gluteenin varhaiseen nauttimiseen (Szajewska ym. 2015, Silano ym. 2016). Toistaiseksi tutkimusnäyttö on kuitenkin hataraa eikä syy-seurausyhteyksiä olla pystytty osoittamaan.

Kirjallisuudesta löytyy runsaasti viitteitä siitä, että aikainen (määritelty yleensä 4-6 kk) kiinteiden ruokien aloittaminen saattaa vähentää allergia tai atopiariskiä erityisesti niillä yksilöillä, joilla riski on perimän puolesta korkea eli niillä, joiden lähisuvussa esiintyy allergioita tai atopiaa (Nwaru ym. 2013, Klinberg ym. 2019). Aiheesta on tehty useita tutkimuksia, erityisesti yleisten allergeenien, kuten maapähkinän, maidon, kananmunan, kalan ja vehnän osalta (Taulukko 2), mutta tutkimusnäyttö on edelleen ristiriitaista. Näyttöä myös imeväisiässä aloitettujen allergeenisten kiinteiden ruokien lukumäärän yhteydestä lapsuuden allergiseen herkistymiseen löytyy (Hua ym. 2017). Tällä hetkellä ei kuitenkaan ole vahvaa näyttöä siitä, että ennen 4 kk aloitettu kiinteiden ruokien aloitus ehkäisisi allergioita tai atopiaa ainakaan rintaruokituilla lapsilla (Perkin ym. 2016, Elbert ym. 2017). Allergioiden puhkeaminen on todennäköisesti usean eri tekijän summa, johon vaikuttavat varhaisen ravinnon lisäksi voimakkaasti perimä ja muu elinympäristö.

Taulukko 2. Tutkimuksia kiinteiden ruokien aloituksen yhteydestä lapsuusiän allergioihin, astmaan tai atopiaan.

Viite (maa)	Tutkimus	N	Tutkimusasetelma	Tärkeimmät tulokset
Nwaru ym. 2013 (Suomi)	Introduction of complementary foods in infancy and atopic sensitization at the age of 5 years: timing and food diversity in a Finnish birth cohort	3781	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Aikainen kiinteiden ruokien aloitus (3 kk – 6 kk) saattaa suojella erityisesti korkean geneettisen riskin omaavia lapsia atooppiselta herkistymiseltä. Pienempi ruokien lukumäärä jo 3 kk iästä alkaen voi lisätä atooppista herkistymistä.
Perkin ym. 2016 (Yhdistynyt kuningaskunta)	Randomized Trial of Introduction of Allergenic Foods in Breast-Fed Infants	1303	Satunnaistettu kontrolloitu tutkimus (RCT)	Tutkimus ei osoittanut aikaisen allergeenisten kiinteiden ruokien aloitusajankohdalla (3 kk) olevan merkitystä allergioiden ehkäisyssä rintaruokituilla lapsilla.
Elbert ym. 2017 (Alankomaat)	Allergenic food introduction and risk of childhood atopic diseases	5202	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Allergeenisten kiinteiden ruokien aloitusajankohta tai ruokien monipuolisuus ei ollut johdonmukaisesti yhteydessä rintaruokittujen lasten atopiariskiin.
Hua ym. 2017 (Taiwan)	Introduction of various allergenic foods during infancy reduces risk of IgE sensitization at 12 months of age: a birth cohort study	272	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Imeväisikäiset (12 kk), joille oli tarjottu vähemmän allergeenisia ruokia imeväisiän aikana (0-2 ruokaa), olivat todennäköisemmin IgE-herkistyneitä 12 kk iässä, ja siten suuremmassa riskissä allergioiden kehittymiselle kuin ne, joille oli imeväisiässä tarjottu suurempi lukumäärä allergeenisia ruokia (3-5 ruokaa).
Klinberg ym. 2019 (Ruotsi)	Introduction of fish and other foods during infancy and risk of asthma in the All Babies In Southeast Sweden cohort study	9727	Prospektiivinen kohorttitutkimus	Korvikemaidon käyttö ennen 14 viikon ikää oli yhteydessä korkeampaan astmariskiin. Kalan tuominen ruokavalioon ennen 29 viikon ikää tai 29–43 viikon välillä oli yhteydessä pienempään astmariskiin.

5. POHDINTA

Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli selvittää varhaislapsuuden ravinnon roolia suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostumisessa. Katsauksen perusteella voidaan todeta, että suolistomikrobiston muodostuminen on varhaislapsuuden aikana tapahtuva prosessi, joka vaikuttaa keskeisesti immuunijärjestelmän ja immunologisen toleranssin kehittymiseen, ja jolla on mahdollisesti pitkäkestoisia vaikutuksia yksilön terveyteen. Perintötekijöiden ja muiden ympäristötekijöiden lisäksi imeväisiän ravinnolla eli äidinmaidolla ja kiinteillä ruoilla on suuri merkitys mikrobiston ja immuunijärjestelmän kehityksessä. Immunologisen toleranssin mekanismeista ja varhaisen ravitsemuksen yhteydestä toleranssin murtumiseen tarvitaan kuitenkin edelleen lisää tutkimusta.

Erittäin merkittävä osa niin mikrobiston kuin immunologisen toleranssin muodostumisessa on varhaislapsuuden elinympäristö, jota tämä kirjallisuuskatsaus ei käsitellyt. Ympäristön mikrobikontaktit muista ihmisistä, eläimistä, kasveista, maasta, vedestä ja ilmasta vaikuttavat mikrobistoon ja terveyteen ja ovat myös keskeinen osa tässä katsauksessa esiteltyä hygieniahypoteesia. Autoimmuunitaudit ja allergiat ovat lisääntyneet länsimaissa erittäin nopealla tahdilla, joten aihe on merkittävä tutkimuskohde. Hygieniahypoteesin laajentuminen varhaislapsuuden infektioista mikrobikeskeisemmäksi tarjoaa tutkimusten valossa varteenotettavan selityksen maailmanlaajuiselle ilmiölle. Globaalit megatrendit, kuten kaupungistuminen, ovat vaikuttaneet merkittävästi ihmisten elämäntyyliin viimeisten vuosikymmenten aikana. Yleinen hygieniataso on noussut ja vaikutukset näkyvät niin asuinoloissa kuin esimerkiksi elintarvikkeissa.

Kirjallisuuden perusteella tämänhetkiset suositukset täysimetyksestä ja kiinteiden ruokien aloituksesta ovat tieteellisesti perusteltuja myös suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostumisen näkökulmasta. Suomessa lapsia imetetään keskimäärin 7–8 kuukautta, josta vain kaksi kuukautta on täysimetystä (VRN ja THL 2019). Varhaisvaiheen imetyksen käynnistymiseen tulisi kiinnittää erityistä huomioita ja tukea, jotta yhä useammat äidit ja lapset yltäisivät täysimetyksen suosituksiin. Lisäksi äitien tulisi saada tietoa ja tukea terveellisen ruokavalion ylläpitämiseksi myös imetyksen aikana, sillä äidin ruokavalio vaikuttaa myös äidinmaidon ravitsemukselliseen laatuun.

Kiinteiden ruokien aloitusajankohta on kiistelty aihe. Kiinteiden ruokien aloittamiseen liittyvät lapsen neuromotoriset valmiudet ovat kuitenkin kaikilla yksilöllisiä ja yleensä kiinteiden ruokien aloittaminen ennen 4 kk ikää ei ole tarpeellista. Osa tutkimuksista puoltaa aikaista maisteluannosten aloittamista, kun taas osa on todennut, että ajankohta ei ole merkittävä allergiariskin suhteen. Useissa artikkeleissa termi ”aikainen aloitus” (eng. early introduction) oli määritelty eri tavalla, mikä vähentää tutkimusten vertailukelpoisuutta. Lisäksi esimerkiksi Perkinin ym. (2016) RCT-tutkimuksessa havaittiin, että aikaisten allergeenisten ruokien aloituksessa uuden ruoka-aineen absoluuttinen määrä voisikin olla aloitusajankohtaa merkittävämpi tekijä kyseiselle ruoka-aineelle siedättymisessä. Lisää tutkimusta tarvittaisiin siis kiinteiden ruokien aloitusajankohdan lisäksi niiden lukumäärästä ja monipuolisuudesta ensimmäisen elinvuoden ja mahdollisesti koko varhaislapsuuden aikana. Useimmat tämän katsauksen tutkimukset käsittelivät imeväisikäisten lasten atooppista tai allergista herkistymistä, mutta olisi tärkeää myös saada tutkimustietoa siitä, kuinka pitkäkestoinen eri ruoka-aineille herkistymisen tarjoama suoja on ja tarvitseeko ruoka-aineisiin kohdistuva immunologisen toleranssin ylläpito jatkuvaa antigeenille herkistymistä.

Ruoka-allergioissa on voimakas perinnöllinen taipumus ja niiden tutkimisessa ilmenee myös sekoittavia tekijöitä. Useimmissa tutkimuksissa oli vakioitu useita sekoittavia tekijöitä, kuten perheen koko, sukupuoli, äidin tai molempien vanhempien koulutus, vanhempien tupakointi sekä asuinympäristö. Kaikkia lapsen elinympäristöön liittyviä tekijöitä, kuten esimerkiksi ilmansaasteita, ei kuitenkaan useimmiten olla huomioitu tutkimuksissa ja kasvavaa näyttöä myös niiden merkityksestä lapsuusajan astmalle ja allergiselle herkistymiselle on havaittu (To ym. 2020).

Varhaislapsuuden ruokavalio muodostaa pohjan myös tulevalle lapsuuden ja mahdollisesti jopa elämänaikaiselle ruokavaliolle ja siksi erilaiset maut ja monipuolisuus on hyvä omaksua jo imeväisiässä. Vanhempien tulisi saada riittävästi tukea imeväisikäisen ravitsemukseen liittyvissä asioissa. Suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin yhteyden kokonaisvaltaiseksi ymmärtämiseksi tulisi tarkastella myös perinataaliaikaa (Barkerin hypoteesi), genetiikkaa ja epigenetiikkaa sekä äidin elämäntapoihin liittyviä tekijöitä esimerkiksi 1000 ensimmäisen elinpäivän teorian ja mahdollisesti koko lapsuusajan kestävän ajanjakson avulla. Lisää tutkimusnäyttöä tarvitaan varhaisen dysbioosin merkityksestä immuunijärjestelmän sairauksien patogeneesille, metaboliselle ohjelmoitumiselle sekä kroonisille sairauksille.

6. JOHTOPÄÄTÖKSET

Suolistomikrobiston ja immunologisen toleranssin muodostuminen varhaislapsuudessa ovat ympäristön altistuksille herkkiä prosesseja, joihin vaikuttavat synnytystapa, äidinmaito tai korvikeruokinta, kiinteiden ruokien aloittaminen ja elinympäristö. Immunologisen toleranssin pettäminen johtaa allergioihin ja autoimmuunitauteihin, joissa on myös todettu suolistomikrobiston dysbioosia. Kirjallisuuskatsauksen perusteella erityisesti rintaruokinnalla on suolistomikrobiston optimaalista koostumusta edistäviä vaikutuksia. Varhaislapsuudessa tietyillä mikrobilajeilla on todennäköisesti suurempi merkitys terveydelle kuin mikrobiston lajikirjolla. Erityisesti *Bifidobacterium*- ja *Lactobacillus* -sukujen varhaislapsuudessa kolonisoimaa mikrobistoa pidetään terveydelle edullisena. Äidinmaito ja sen aikaansaama suolistomikrobiston koostumus vaikuttaa merkittävästi myös immuunijärjestelmän kehittymiseen ja immunologiseen toleranssiin. Tieteellistä näyttöä rintaruokinnan lapsuusajan infektioita ja allergioita ehkäisevästä vaikutuksesta löytyy runsaasti, vaikkakin tutkimusnäyttö on erityisesti allergiariskin osalta edelleen ristiriitaista.

Kiinteiden ruokien aloitus muokkaa suolistomikrobistoa aikuisen koostumusta muistuttavaksi ja tutkimusnäyttö puoltaa kiinteiden maisteluannosten aloittamista rinta- tai korvikeruokinnan ohella 4–6 kk iässä allergiariskin pienentämiseksi. Välttämisruokavaliot eivät ole perusteltuja ja suurempi kiinteiden ruokien lukumäärä ensimmäisen elinvuoden aikana saattaa vähentää ruoka-allergioiden ja atopian riskiä lapsuudessa. Imeväisiän ruokavalion mahdollisesta merkityksestä autoimmuunitautien patogeneesissä tarvitaan lisää tutkimusta.

Tulevaisuudessa olisi tarvetta erityisesti imeväisikäisten vanhempien imetys- ja ravitsemusohjauksen vaikuttavuuden sekä varhaisen ruokavalion laadun jatkuvuuden tutkimiselle. Lisäksi äidinmaidonkorvikkeiden tuotekehityksessä tulisi ottaa huomioon pre- ja probioottilisien mahdollisuudet lapsen suolistomikrobiston optimaaliselle kehitykselle.

LÄHTEET

Ahluwalia B, Magnusson MK, Öhman L. Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad. Scand J Gastroenterol 2017;52:1185-1193.

Arrieta M, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The Intestinal Microbiome in Early Life: Health and Disease. Frontiers in Immunology 2014;5:427.

Ashley C, Johnston WH, Harris CL, Stolz SI, Wampler JL, Berseth CL. Growth and tolerance of infants fed formula supplemented with polydextrose (PDX) and/or galactooligosaccharides (GOS): double-blind, randomized, controlled trial. Nutr J. 2012;11:38.

Barni S, Liccioli G, Sarti L, Giovannini M, Novembre E, Mori F. Immunoglobulin E (IgE)-Mediated Food Allergy in Children: Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Management. Medicina 2020;56:111.

Butel M. The developing gut microbiota and its consequences for health. Journal of Developmental Origins of Health and Disease 2018;9:590–597.

Castanys-Muñoz E, Martin MJ, Vazquez E. Building a Beneficial Microbiome from Birth. Advances in Nutrition 2016;7:323.

Chia JSJ, McRae JL, Kukuljan S, Woodford K, Elliott RB, Swinburn B, Dwyer KM. A1 beta-casein milk protein and other environmental pre-disposing factors for type 1 diabetes. Nutrition & diabetes 2017;7:e274.

Davis EC, Dinsmoor AM, Wang M, Donovan SM. Microbiome Composition in Pediatric Populations from Birth to Adolescence: Impact of Diet and Prebiotic and Probiotic Interventions. Dig Dis Sci 2020;65:706-722.

Davisse-Paturet C, Adel-Patient K, Forhan A, Lioret S, Annesi-Maesano I, Heude B, Charles MA, de Lauzon-Guillain B. Breastfeeding initiation or duration and longitudinal patterns of infections up to 2 years and skin rash and respiratory symptoms up to 8 years in the EDEN mother–child cohort. Maternal & Child Nutrition 2020;n/a:e12935.

Elbert Nj, Kiefte-de Jong Jc, Voortman T, Nijsten Tec, de Jong Nw, Jaddoe Vwv, de Jongste Jc, Gerth van Wijk R, Duijts L. Allergenic food introduction and risk of childhood atopic diseases. PLoS One. 2017;12:e0187999.

El-Heneidy A, Abdel-Rahman ME, Mihala G, Ross LJ, Comans TA. Milk Other Than Breast Milk and the Development of Asthma in Children 3 Years of Age. A Birth Cohort Study (2006–2011). Nutrients 2018;10:1798.

Field CJ. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. J Nutr 2005;135:1-4.

Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, Lin DL, Levan S, Fadrosh D, Panzer AR, LaMere B, Rackaityte E, Lukacs NW, Wegienka G, Boushey HA, Ownby DR, Zoratti EM, Levin AM,

Johnson CC, Lynch SV. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. Nat Med 2016;22:1187-1191.

Garcia-Larsen V, Ierodiakonou D, Jarrold K, Cunha S, Chivinge J, Robinson Z, Geoghegan N, Ruparelia A, Devani P, Trivella M, Leonardi-Bee J, Boyle RJ. Diet during pregnancy and infancy and risk of allergic or autoimmune disease: A systematic review and meta-analysis. PLoS Medicine 2018;15:e1002507.

Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. Science (New York, N.Y.) 2016;352:539.

Güngör D, Nadaud P, LaPergola CC, Dreibelbis C, Wong YP, Terry N, Abrams SA, Beker L, Jacobovits T, Järvinen KM, Nommsen-Rivers LA, O'Brien KO, Oken E, Pérez-Escamilla R, Ziegler EE, Spahn JM. Infant milk-feeding practices and food allergies, allergic rhinitis, atopic dermatitis, and asthma throughout the life span: a systematic review. Am J Clin Nutr 2019;109:772S-799S.

Han DH, Shin J, An S, Kim JS, Kim D, Moon S, Kim J, Cho JS, Kim SW, Kim YH, Roh H, Shim WS, Rha K, Kim S, Lee S, Kim DW, Cho , Yim HJ, Park S, Rhee C. Long-term Breastfeeding in the Prevention of Allergic Rhinitis: Allergic Rhinitis Cohort Study for Kids (ARCO-Kids Study). Clinical and Experimental Otorhinolaryngology 2019;12:301-307.

Hua M, Yao T, Chen C, Tsai M, Liao S, Chiu C, Su K, Yeh K, Huang J. Introduction of various allergenic foods during infancy reduces risk of IgE sensitization at 12 months of age: a birth cohort study. Pediatr Res 2017;82:733–740.

Huffnagle GB, Noverr MC. GI microbiota and regulation of the immune system. New York, N.Y: Springer Science+Business Media 2008.

Hänninen A. Immunologinen toleranssi. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Kantele A. ja Vaarala O. Limakalvojen immuunijärjestelmä. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Kirjavainen P, von Wright A, Mykkänen H. Ravinto ja suolistomikrobisto. Kirjassa: Uusitupa M, Mutanen M, Aro A. Ravitsemustiede. Helsinki: Duodecim 2014.

Klingberg S, Brekke HK, Ludvigsson J. Introduction of fish and other foods during infancy and risk of asthma in the All Babies In Southeast Sweden cohort study. Eur J Pediatr. 2019;178:395-402.

Korpela K. Intestinal microbiota development in childhood: implications for health and disease. Väitöskirja. Helsingin yliopisto 2016.

Le Doare K, Holder B, Bassett A, Pannaraj PS. Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity. Front Immunol. 2018;9:361.

Liu Y, Alookaran JJ, Rhoads MJ. Probiotics in Autoimmune and Inflammatory Disorders. Nutrients. 2018;10:1537.

Matsumoto N, Yourifuji T, Nakamura K, Ikeda M, Tsukahara H, Doi H. Breastfeeding and risk of food allergy: A nationwide birth cohort in Japan. Allergology International 2020;69:91-97.

Meri S. Johdanto immunologiaan. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J, Belzer C, Palacio SD, Montes SA, Mancabelli L, Lugli GA, Rodriguez JM, Bode L, Vos Wd, Gueimonde M, Margolles A, Sinderen Dv, Ventura M. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR 2017;81:e00036-17.

Nwaru BI, Takkinen HM, Kaila M, Erkkola M, Ahonen S, Pekkanen J, Simell O, Veijola R, Ilonen J, Hyöty H, Knip M, Virtanen SM. Food diversity in infancy and the risk of childhood asthma and allergies. J Allergy Clin Immunol. 2014;133:1084-1091.

Palva A. Suolistomikrobit ja niiden merkitys terveydelle. Duodecim 2009;125:685-94.

Pannaraj PS, Li F, Cerini C, Bender JM, Yang S, Rollie A, Adisetiyo H, Zabih S, Lincez PJ, Bittinger K, Bailey A, Bushman FD, Sleasman JW, Aldrovandi GM. Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. JAMA Pediatr 2017;171:647-654.

Padilha M, Danneskiold-Samsøe NB, Brejnrod A, Hoffmann C, Cabral VP, Iaucci JM, Sales CH, Fisberg RM, Cortez RV, Brix S, Taddei CR, Kristiansen K, Saad SMI. The Human Milk Microbiota is Modulated by Maternal Diet. Microorganisms 2019;7:502.

Pekkarinen PT. Immunologinen toleranssi. Duodecim 2015;131:628-635.

Perkin MR, Logan K, Tseng A, Raji B, Ayis S, Peackock J, Brough H, Marrs T, Radulovic S, Craven J, Flohr C, Lack G. Randomized Trial of Introduction of Allergenic Foods in Breast-Fed Infants. N Engl J Med. 2016;374:1733-1743.

Roduit C, Frei R, Depner M, Schaub B, Loss G, Genuneit J, Pfefferle P, Hyvärinen A, Karvonen AM, Riedler J, Dalphin JC, Pekkanen J, von Mutius E, Braun-Fahrländer C, Lauener R. Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2014;133:1056–10647.

Ruoka-allergia (lapset). Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Lastenlääkäriyhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2019

Sand O, Sjaastad ØV, Haug E, Toverud KC, Bjålie JG, Hekkanen R, Sjaastad OV, Hekkanen R. Ihminen : fysiologia ja anatomia. Helsinki: Sanoma Pro 2012.

Salmi M. ja Meri S. Immuunijärjestelmän anatomia: solut ja kudokset. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Selma-Royo M, Tarrazó M, García-Mantrana I, Gómez-Gallego C, Salminen S, Collado MC. Shaping Microbiota During the First 1000 Days of Life. Advances in experimental medicine and biology 2019;1125:3-24.

Siedätyshoito. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Allergologi- ja Immunologiyhdistys ry:n ja Suomen Lastenlääkäreiden Allergologiayhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim, 2019

Silano M, Agostoni C, Sanz Y, Guandalini S. Infant feeding and risk of developing celiac disease: a systematic review. BMJ Open 2016;6:e009163.

Sricharunrat T, Pumirat P, Leaungwutiwong P. Oral tolerance: Recent advances on mechanisms and potential applications. Asian Pac J Allergy Immunol 2018;36:207-216.

Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. BMJ (Clinical research ed.) 1989;299:1259-1260.

Swartwout B, Luo XM. Implications of Probiotics on the Maternal-Neonatal Interface: Gut Microbiota, Immunomodulation, and Autoimmunity. Frontiers in immunology 2018;9:2840.

Szajewska H, Shamir R, Chmielewska A, Pieścik-Lech M, Auricchio R, Ivarsson A, Kolacek S, Koletzko S, Korponay-Szabo I, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, Troncone R. Systematic review with meta-analysis: early infant feeding and coeliac disease – update 2015. Alimentary Pharmacology & Therapeutics 2015;41:1038-1054.

Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. Allergology International 2017;66:515-522.

Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. Immunol Rev. 2008;223:87-113.

THL. Ruoka-allergiat. Päivitetty 7.5.2020. https://thl.fi/fi/web/kansantaudit/astma-ja-allergiat/ruoka-allergiat

To T, Zhu J, Stieb D, Gray N, Fong I, Pinault L, Jerrett M, Robichaud A, Ménard R, van Donkelaar A, Martin RV, Hystad P, Brook JR, Dell S. Early life exposure to air pollution and incidence of childhood asthma, allergic rhinitis and eczema. European Respiratory Journal 2020;55:1900913.

Uusitalo U, Liu X, Yang J, Aronsson CA, Hummel S, Butterworth M, Lernmark Å, Rewers M, Hagopian W, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B, Krischer J, Norris JM, Virtanen SM. Association of Early Exposure of Probiotics and Islet Autoimmunity in the TEDDY Study. JAMA Pediatr. 2016;170:20-8.

Vaarala O, Seppänen M, Miettinen A. Immuunisairaudet. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Vickery BP, Scurlock AM, Jones SM, Burks AW. Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy. J Allergy Clin Immunol 2011;127:576-584.

Virtanen T, Savolainen S. Allergian mekanismit. Kirjassa: Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 2, Immunologia. Helsinki: Duodecim 2011.

Vitetta L, Vitetta G, Hall S. Immunological Tolerance and Function: Associations Between Intestinal Bacteria, Probiotics, Prebiotics, and Phages. Frontiers in immunology 2018;9:2240.

VRN ja THL. Syödään yhdessä – ruokasuositukset lapsiperheille. 2. uudistettu painos 2019. PunaMusta Oy. Helsinki 2019.

Wopereis H, Oozeer R, Knipping K, Belzer C, Knol J. The first thousand days – intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. Pediatric Allergy and Immunology 2014;25:428-438.

World Health Organization (WHO). Exclusive Breastfeeding. 2018. http://www.who.int/nutrition/topics/exclusive_breastfeeding/en/

Yahaya T, Shemishere U. Association between Bioactive Molecules in Breast Milk and Type 1 Diabetes Mellitus. Sultan Qaboos Univ Med J 2020;20:e5-e12.

Ziegler E, Vanderhoof JA, Petschow B, Mitmesser SH, Stolz SI, Harris CL, Berseth CL. Term infants fed formula supplemented with selected blends of prebiotics grow normally and have soft stools similar to those reported for breast-fed infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007;44:359-64.

Zimmermann P, Messina N, Mohn WW, Finlay BB, Curtis N. Association between the intestinal microbiota and allergic sensitization, eczema, and asthma: A systematic review. J Allergy Clin Immunol 2019;143:467-485.