



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ



Διπλωματική εργασία.

«Νεκρωτική εντεροκολίτιδα στα πρόωρα νεογνά. Ο ρόλος της πρώιμης εντερικής σίτισης στην πρόληψη και αντιμετώπιση»

Ευαγγελία Β. Πασχώνη
Νοσηλεύτρια Τ.Ε.



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Σπυρίδων Π. Ποταμιάνος.** Καθηγητής Γαστρεντερολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Επιβλέπων καθηγητής.
2. **Ανδρέας Ν. Καψωριτάκης.** Αν. Καθηγητής Γαστρεντερολογίας – Παθολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος τριμελούς επιτροπής.
3. **Κωνσταντίνος Α. Οικονόμου.** Γαστρεντερολόγος, MD, PhD. Μέλος τριμελούς επιτροπής.

Λάρισα, 2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ



Necrotizing enterocolitis in preterm newborns: The role of early enteral feeding in prevention and treatment.

Πίνακας περιεχομένων.

	<i>Σελίδα</i>
Πίνακας περιεχομένων.	2
Περίληψη.	5
Abstract.	6
Εισαγωγή. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEC)	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο.	
1.1. Ιστορική αναδρομή.	8
1.2. Προωρότητα.	9
1.3. Επιδημιολογία.	11
1.4. Κόστος νοσηλείας.	12
1.5. Κλινική εικόνα – διάγνωση.	13
1.6. Αυτόματη διάτρηση εντέρου.	16
1.7. Παθολογική ανατομική.	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο.	
2.1 Παθοφυσιολογία.	18
2.1.1. Γενετικοί παράγοντες	19
2.1.2. Ισχαιμία.	19
2.1.3. Ο ρόλος του NO και της Ενδοθηλίνης-1	20
2.1.4. NEC σχετιζόμενη με μεταγγίσεις	21
2.1.5. Χορήγηση κορτικοειδών προ του τοκετού.	21
2.1.6 Χορήγηση ινδομεθακίνης ως τοκολυτικό.	22
2.2. Φυσικοί προστατευτικοί φραγμοί	22
2.2.1. Το εντερικό επιθήλιο – επιθηλιακός φραγμός.	22
i. Εντεροκύτταρα.	22
ii. Goblet cells (βλεννοπαραγωγά κύτταρα).	23
iii. Κύτταρα Paneth.	23
iv. Ανοσοκύτταρα.	24
v. T κύτταρα.	24
vi. Εντεροενδοκρινικά κύτταρα.	24
2.2.2. Φυσικοί μηχανισμοί άμυνας.	24
i. Γαστρική οξύτητα.	24
ii. Στρώμα βλένης.	25
2.2.3. Μικροβίωμα.	25

2.2.4.	Δυσβίωση	26
2.2.5.	Χορήγηση αντιβιοτικών.	27
2.3.	Το ανοσοποιητικό σύστημα του νεογνικού εντέρου.	28
2.3.1.	Ο ρόλος του TLR.	29
2.4.	Μεσολαβητές φλεγμονής.	30
i.	IL-1.	30
ii.	IL-1Ra.	30
iii.	TNF.	30
iv.	IL-6	31
v.	IL-8	31
vi.	IL-10	32
vii.	NF-κB	32
viii.	IFN-γ.	33
ix.	IL-12 και IL-18.	33
x.	TGF-β.	33
xi.	PAF.	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο.		
3.1.	Σίτιση προώρων νεογνών. Ανθρώπινο γάλα, τυποποιημένα σκευάσματα ή TPN;	35
3.1.1.	Αναπτυξιακή βιολογία.	35
3.2.	Το ανθρώπινο γάλα.	36
3.2.1.	Σύσταση – σύνθεση.	37
3.2.2.	Περίοδοι γαλακτοπαραγωγής.	37
3.2.3.	Μακροθρεπτικά συστατικά και λειτουργίες τους.	38
i.	Πρωτεΐνες.	38
ii.	Λίπη.	39
iii.	Σάκχαρα.	40
iv.	Γλυκοπρωτεΐνες.	41
v.	Ενέργεια.	42
3.2.4.	Αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις του μητρικού γάλακτος.	42
3.2.5.	Βιοδραστικοί παράγοντες.	43
i.	Εντερική ωρίμανση και επιδιόρθωση: Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF).	43
ii.	Ανάπτυξη ιστού: Η υπεροικογένεια αυξητικού παράγοντα τύπου ινσουλίνης (IGF).	43
iii.	Εντερική ανάπτυξη και πρόληψη της αναιμίας: Ερυθροποιητίνη (Epo).	43
iv.	Transforming growth factor-β2 (TGF-β2).	44

v. Ανοσοσφαιρίνες. (Igs).	44
3.3. Προτυποποιημένα γάλατα προώρων. (Formulas).	45
i. Λίπη.	45
ii. Υδατάνθρακες.	45
iii. Πρωτεΐνες.	46
iv. Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία.	46
3.4. Ενισχυμένο ανθρώπινο γάλα. (Μητέρας ή δότριας).	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4°.	
4.1. NEC και πρόιμη σίτιση.	49
4.2. Πρακτικές σίτισης προώρων.	49
4.2.1. Ανθρώπινο γάλα ή formula;	50
4.2.2. Πρόιμη ελάχιστη σίτιση.	51
4.2.3. Αύξηση της σίτισης.	53
4.2.4. Πρωτόκολλο σίτισης.	53
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°.	
5.1. Συμπεράσματα.	55
Βιβλιογραφία.	
Παράρτημα Α. Διατροφική σύσταση προτυποποιημένου γάλακτος (formula) ανά 100 Kcal.	68
Παράρτημα Β. Συντομογραφίες	70

Περίληψη.

Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα είναι μία από τις πιο συχνές επείγουσες καταστάσεις από το γαστρεντερικό στα νεογέννητα βρέφη και μία από τις συνηθέστερες επείγουσες χειρουργικές καταστάσεις με αυξημένα ποσοστά θνητότητας και νοσηρότητας. Η αιτιοπαθογένεια εξακολουθεί σε σημαντικό βαθμό να μην είναι σαφώς διευκρινισμένη, αν και τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικά βήματα προς αυτή την κατεύθυνση. Η νόσος φαίνεται ότι αποτελεί συνδυασμό περιβαλλοντικών, γενετικών, ανοσολογικών παραγόντων με την προωρότητα να αποτελεί τη βασικότερη αιτία. Παρά την βελτίωση της τεχνολογίας και των συνθηκών νοσηλείας των πρόωρων νεογνών, η επίπτωση παραμένει υψηλή και είναι αντιστρόφως ανάλογη με το βάρος γέννησης. Ακόμα και σήμερα δεν υπάρχει ενδεδειγμένος τρόπος πρόληψης. Τις τελευταίες δεκαετίες έχει δοθεί έμφαση στο ρόλο της σίτισης, με το ανθρώπινο γάλα να αποτελεί σημαντικό μέτρο πρόληψης, αφού περιέχει αφενός μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά για την κάλυψη των μεταβολικών αναγκών του νεογνού και αφετέρου διαθέτει βιοδραστικά συστατικά που δρουν έναντι παθογόνων, έχοντας ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες και λειτουργώντας ως αυξητικοί παράγοντες προάγοντας στην επούλωση βλαβών. Αρχικά είχε υποστηριχθεί ότι η πρόωμη σίτιση αποτελεί παράγοντα κινδύνου. Τα σημερινά δεδομένα μελετών απορρίπτουν την αρχική θεώρηση και αποδεικνύουν πως δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Εναλλακτικά, αντί για ανθρώπινο γάλα, υπάρχουν διαθέσιμα προτυποποιημένα σκευάσματα ειδικά σχεδιασμένα για τις διατροφικές ανάγκες ενός πρόωρου, αν και έχει αποδειχθεί η σαφής υπεροχή του μητρικού γάλακτος. Επιπροσθέτως, η επαρκής κάλυψη των πρόωρων νεογνών δεν μπορεί να δίδεται μέσω ολικής παραντερικής διατροφής για παρετεταμένο χρονικό διάστημα λόγω των δυνητικών επιπλοκών, κυρίως από τη χρήση ενδαγγειακών καθετήρων. Τέλος, χρήσιμο εργαλείο για την ορθότερη σίτιση αυτής της ευαίσθητης ομάδας, είναι η χρήση ειδικού πρωτοκόλλου σίτισης στις μονάδες εντατικής φροντίδας νεογνών, το οποίο φαίνεται ότι περιορίζει τα περιστατικά NEC.

Λέξεις κλειδιά: Εντεροκολίτιδα, προωρότητα, ισχαιμία, σίτιση, γάλα.

Abstract.

Necrotizing enterocolitis is one of the most common emergencies of the gastrointestinal tract in newborn babies and one of the most common urgent surgical conditions. It has high morbidity and mortality rates. Despite thorough investigation its pathogenesis remains unclear. NEC is a combination of environmental, genetic and immunologic factors but prematurity constitutes the main determinant. Despite modern technology and improvement of preterm babies hospitalization conditions, the incidence remains high and it is inversely proportional with the birth weight. Even today, there is no absolute way of prevention. In recent decades emphasis has been placed on the role of preterm feeding. Human milk is an important preventive measure since it contains both macronutrients and micronutrients to meet the metabolic needs of the newborn. Furthermore it contains bioactive ingredients that act against pathogens, having immunomodulatory properties and acting as growth factors in the promotion lesion healing. It was initially, argued that early feeding is a risk factor. Recent data reject the initial view and demonstrate that there is no statistically significant difference. Alternatively, instead of human milk, standardized formulations are available specifically designed for the nutritional needs of a preterm, but the clear superiority of the maternal milk has been proven. Additionally, adequate coverage of premature neonates can not be given through total parenteral nutrition, over a prolonged period of time, due to potential complications, notably by the use of intravascular catheters. Finally, a useful tool for better feeding this sensitive group is the use of a feeding protocol in neonatal intensive care units, which seems to be able to reduce NEC incidents.

Key words. Enterocolitis, prematurity, ischaemia, feeding, milk.

Εισαγωγή. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEC).

Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα είναι μία από τις πιο συχνές επείγουσες καταστάσεις από το γαστρεντερικό στα νεογνήνητα βρέφη και μία από τις συνηθέστερες επείγουσες χειρουργικές καταστάσεις. Ορισμένοι ερευνητές τη χαρακτηρίζουν ως φλεγμονώδη νόσο του εντέρου του νεογνού. Πρόκειται κυρίως για νόσο προώρων νεογνών, με 90% των προσβεβλημένων βρεφών να έχουν γεννηθεί πριν από την 36^η εβδομάδα κύησης. Παρόλο που έχουν περάσει σχεδόν δύο αιώνες από την πρώτη περιγραφή της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (NEC) από τον Charles Billard, η νόσος συνεχίζει να αποτελεί αίνιγμα καθώς ο ακριβής μηχανισμός που προκαλεί τη φλεγμονή και τη βλάβη του εντέρου δεν έχει κατανοηθεί καλά, παρά την εκτεταμένη κλινική και βασική έρευνα τις τελευταίες δεκαετίες και εξακολουθεί να θεωρείται ως κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας προώρων σε μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών (NICUs). Από τότε, η συχνότητα εμφάνισης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και η σχετική νοσηρότητα και θνησιμότητα παρέμειναν αμετάβλητες λόγω της συνεχώς βελτιωμένης επιβίωσης των μικρότερων νεογνών και σε ορισμένες περιπτώσεις, τα ποσοστά αυτά έχουν πράγματι αυξηθεί. Η παθογένεια εξακολουθεί να είναι κατά μεγάλο βαθμό άγνωστη, η θεραπεία είναι δύσκολη και συχνά αποδεικνύεται ανεπαρκής, ενώ δεν υπάρχει αποτελεσματική στρατηγική πρόληψης. Η νόσος είναι ιδιαίτερα οδυνηρή επειδή επηρεάζει κυρίως τα πρόωρα βρέφη που έχουν επιβιώσει της πρώιμης νεογνικής περιόδου και στη συνέχεια αντιμετωπίζουν μια κατάσταση με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα.^[1-5]

Ο όρος "νεκρωτική εντεροκολίτιδα" (NEC) αντανακλά συχνά ένα φάσμα εκδηλώσεων που έχουν διαφορετική παθογένεια. Η κλασική μορφή NEC συνήθως εμφανίζεται σε πρόωρα νεογνά τις πρώτες 2 εβδομάδες της ζωής. Η αυτόματη διάτρηση του εντέρου (SIP, spontaneous intestinal perforation), συχνά διαγνωσμένη ως NEC, εμφανίζεται σε τελειόμηνα νεογνά και μπορεί να παρατηρηθεί και αρκετές ημέρες μετά τη γέννηση. Αυτή η κατάσταση πιθανώς αντιπροσωπεύει μια διαφορετική κλινική οντότητα, και χαρακτηρίζεται μόνο από ελάχιστη εντερική φλεγμονή και/ή νέκρωση.^[6]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

1.1. Ιστορική αναδρομή.

Η πρώτη αναφορά περιστατικού νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (NEC) πιθανότατα χρονολογείται στο 1823 όταν ο Charles Billard χρησιμοποίησε τη «γαγγραινώδη εντεροκολίτιδα» ή «κακοήθη εντερίτιδα» για να περιγράψει τη νέκρωση και τη φλεγμονή του εντερικού σωλήνα σε μικρό βρέφος. Προς τα μέσα του 19^{ου} αιώνα, ακολούθησε μια αναφορά σειράς 25 ασθενών με «γαγγραινώδη εντεροκολίτιδα».^[7] Το 1891 ο Genersich, περιέγραψε ένα πρόωρο νεογνό 45 ωρών που παρουσίασε εμετό, κυάνωση και διάταση κοιλίας. Το νεογνό πέθανε μέσα σε 24 ώρες, και μετά από νεκροτομή παρατηρήθηκε μια περιοχή φλεγμονής και διάτρησης του ειλεού, χωρίς να βρεθεί ανατομική ή μηχανική αιτία. Έκτοτε έχουν δημοσιευθεί αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για ανεξήγητες εντερικές διατρήσεις νεογνών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η έκθεση του Rudnew το 1915 που περιγράφει ένα πρόωρο νεογέννητο, μητέρας με πυρετό και χοριοαμνιονίτιδα, με έλκη στον τελικό ειλέο ως το μοναδικό μη φυσιολογικό εύρημα. Το 1939 ο Thelander συνέλεξε όλες τις αναφερθείσες περιπτώσεις βρεφών ηλικίας κάτω του 1 έτους. Βρέθηκαν 16 περιπτώσεις διάτρησης του στομάχου, 20 διάτρησης του δωδεκαδακτύλου και 39 με διάτρηση του ειλεού και του παχέος εντέρου. Κατά τη δεκαετία του 1940 περιγράφηκαν πολλές περιπτώσεις «σοβαρής λοιμώδους εντερίτιδας». Ο Willi (1944) περιέγραψε 62 περιπτώσεις βρεφών κάτω των 3 μηνών ως κακοήθη εντερίτιδα (malignant enteritis). Βρέθηκε πως στο 72% των περιπτώσεων υπήρχαν έλκη στον τελικό ειλέο και όλες οι περιπτώσεις ήταν θανατηφόρες.^[8]

Κατά τη διάρκεια του Β΄ παγκοσμίου πολέμου, το 1943, οι Agerty, Ziserman και Hollenberger πραγματοποίησαν την πρώτη επιτυχή επέμβαση σε ένα πρόωρο βρέφος 2 ημερών με βάρος σώματος 2,4 Kg το οποίο εμφάνισε κοιλιακή διάταση, έντονη δυσφορία, γογγυσμό, άρνηση λήψης τροφής και μικρή ποσότητα χολώδους εμετού. Δεν είχε κένωση, πλην της πρώτης, ένα 24ωρο νωρίτερα. Η ακτινογραφία ανέδειξε ελεύθερο αέρα υποδιαφραγματικά καθώς και διατεταμένες εντερικές έλικες. Ο ασθενής υπεβλήθη σε χειρουργική επέμβαση κατά την οποία βρέθηκε διάτρηση ειλεού και κατόπιν έγινε συρραφή. Η έκβαση ήταν επιτυχής και ο ασθενής εξήλθε μερικές ημέρες αργότερα. Ήταν η πρώτη χειρουργική επέμβαση με θετική έκβαση. Αρκετές άλλες μελέτες παρουσιάστηκαν έκτοτε σχετικά με τη διάτρηση του εντέρου ή την περιτονίτιδα στη νεογνική περίοδο και πολλές περιγραφές νεκρωτικής εντεροκολίτιδας εμφανίστηκαν στην ευρωπαϊκή βιβλιογραφία που υποστήριζαν την επιτυχή χειρουργική θεραπεία.^[9,10]

Η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε ο όρος «νεκρωτική εντεροκολίτιδα» (NEC) στην ιατρική βιβλιογραφία ήταν το 1952, όταν δύο άρθρα που δημοσιεύθηκαν στο Z. Kinderheilkd περιγράφουν μια ιδιαίτερα σοβαρή μορφή εντερίτιδας, την οποία οι συγγραφείς ονόμαζαν

«Enterocolitis Ulcerosa Necroticans». Ο Schmid περιέγραψε την παθολογική ανατομική και ο Quaiser την κλινική εικόνα της νόσου. Το επόμενο έτος, οι ίδιοι συγγραφείς ονόμασαν αυτή την κατάσταση «Necrotizing Enterocolitis» (NEC). Το 1964 ο Berdon περιέγραψε τα κλινικά και ακτινολογικά ευρήματα. Έως και τα τέλη της δεκαετίας του 1960, περιγράφεται σαφώς η κλινική σημειολογία, με την αιτιοπαθογένεια να παραμένει άγνωστη. Η έναρξη της νόσου συνήθως τοποθετούνταν στην πρώτη εβδομάδα της ζωής, αν και όχι σπάνια νωρίτερα. Στο ιστορικό πιθανότατα περιλαμβάνονταν περιγεννητική ασφυξία, νόσος υαλίνης μεμβράνης, άπνοιες ή ίκτερος. Διάταση της κοιλίας, εξάλειψη εντερικών ήχων, βλενώδης διάρροια με πρόσμιξη αίματος, καθώς και χολώδεις έμετοι περιγραφόταν ως τα κύρια κλινικά σημεία. Σε σοβαρές περιπτώσεις διάτρηση του ειλεού ή του κόλου, περιτονίτιδα, σοκ, γενικευμένη σηψαιμία και θάνατος. Η ακτινολογική μελέτη, που χρησιμοποιείται και σήμερα, περιλάμβανε σημεία όπως διατεταμένες έλικες λεπτού εντέρου, αλλά το κύριο χαρακτηριστικό είναι το σημείο pneumatosis intestinalis, κατά το οποίο θύλακες αέρα παγιδεύονται εντός του τοιχώματος του εντέρου και εμφανίζονται ως γραμμοειδείς συλλογές, και επί διάτρησης πνευμοπεριτόναιο.^[11,12]

Η πρώτη ταξινόμηση βαρύτητας της NEC, προτάθηκε το 1978 από τους Bell, Ternberg, Feigin et al., βάσει της σοβαρότητας της κλινικής παρουσίασης και των στρατηγικών θεραπείας. Ήταν η πρώτη προσπάθεια διευκρίνισης της θεραπευτικής προσέγγισης βάσει ευρημάτων. Στον παρακάτω πίνακα, (πίνακας 1) παρατίθενται τα κριτήρια κατά Bell όπως αυτά τροποποιήθηκαν το 1987.^[13,14]

Στάδιο	Κλινικά ευρήματα	Ακτινολογικά ευρήματα	Γαστρεντερικά ευρήματα
I	Άπνοια, βραδυκαρδία, αστάθεια θερμορρυθμισμού	Φυσιολογικό πρότυπο αερίων ή λίγα υδραερικά επίπεδα	Ήπια κοιλιακή διάταση, λανθάνον αίμα στα κόπρανα, γαστρικά υπόλειμμα
IIA	Άπνοια, βραδυκαρδία, αστάθεια θερμορρυθμισμού	Ευλές με διατεταμένες εντερικές έλικες και τοπική πνευμάτωση	Μέτρια κοιλιακή διάταση, αιματοχεσία, απόντες εντερικοί ήχοι
IIB	Μεταβολική οξέωση, θρομβοπενία	Εκτεταμένη πνευμάτωση, αέρας στην πυλαία, ασκίτης	Κοιλιακή ευαισθησία και οίδημα
IIIA	Μικτή οξέωση, διαταραχές ηλεκτρολύτων, υπόταση, ολιγουρία.	Διάταση εντερικών ελίκων σε σοβαρό βαθμό, ασκίτης, όχι ελεύθερος αέρας.	Οίδημα, ερύθημα και σύσπαση κοιλιακού τοιχώματος
IIIB	Shock, επιδείνωση ζωτικών σημείων και εργαστηριακών ευρημάτων	Πνευμοπεριτόναιο	Διάτρηση

Πίνακας 1. Τροποποιημένα κριτήρια κατά Bell. Ανατύπωση από: Kliegman RM, Walsh MC. Neonatal necrotizing enterocolitis: pathogenesis, classification, and spectrum of illness. Curr Probl Pediatr. 1987 Apr;17(4):213-88.

1.2. Προωρότητα.

Σύμφωνα με τον ΠΟΥ προωρότητα ορίζεται ως η γέννηση πριν την 37^η εβδομάδα ή κύηση <259 ημερών και αυτό μπορεί να υποδιαιρεθεί περαιτέρω ως: εξαιρετικά πρόωρο (<28 εβδομάδες), πολύ πρόωρο (28-<32 εβδομάδες) και μέτρια ή όψιμα πρόωρο (32-<37 εβδομάδες). Αυτές οι υποδιαιρέσεις είναι σημαντικές καθώς η μείωση της ηλικίας κύησης συνδέεται με την αύξηση της θνησιμότητας, την αναπηρία, την ένταση της νεογνικής φροντίδας που απαιτείται και, συνεπώς, την

αύξηση του κόστους. Οι περισσότεροι πρόωροι τοκετοί (~84%) εμφανίζονται μετά από την 32^η εβδομάδα της κύησης. Τα περισσότερα από αυτά τα νεογνά θα επιβιώσουν με υποστηρικτική φροντίδα χωρίς εντατική φροντίδα. Ωστόσο, ένα τεράστιο χάσμα επιβίωσης παραμένει μεταξύ των πλουσιότερων και φτωχότερων χωρών. Επί του παρόντος, περισσότερο από το 90% των βρεφών που γεννήθηκαν πριν από την 28^η εβδομάδα επιβιώνουν σε χώρες με υψηλή ανάπτυξη, αλλά σε περιοχές χαμηλής ανάπτυξης, το αντίστοιχο ποσοστό φτάνει μόλις το 10%. Στις αρχές του 20ου αιώνα, το Ηνωμένο Βασίλειο και οι Η.Π.Α. είχαν ποσοστά νεογνικής θνησιμότητας 40 ανά 1000 γεννήσεις - παρόμοιες με την Αφρική το 2000 - αλλά αυτές μειώθηκαν σε 15 ανά 1000 γεννήσεις πριν η εντατική φροντίδα των νεογνών γίνει ευρέως διαθέσιμη. Το 2005, είχε εκτιμηθεί ότι το 9,6% όλων των γεννήσεων ήταν πρόωρες, γεγονός που σημαίνει περίπου 12,9 εκατομμύρια γεννήσεις. Περίπου το 85% παρατηρήθηκε στην Αφρική και την Ασία, 0,9 εκατομμύρια αφορούσαν τη Λατινική Αμερική και την Καραϊβική και 1 εκατομμύριο (7,4%) αφορούσαν την Ευρώπη και Βόρεια Αμερική, με αυξητικές τάσεις. Πράγματι, σε πρόσφατη μελέτη (2010) η εκτίμηση πρόωρου τοκετού παγκοσμίως ανερχόταν σε 11,1%. Το 60% αυτών εμφανίζονται στην υποσαχάρια Αφρική και Ν.Α. Ασία. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως στις Η.Π.Α., το ποσοστό πρόωρων τοκετών ανέρχεται σε 12,0% συμβάλλοντας σημαντικά στην παιδική θνησιμότητα και νοσηρότητα.^[15,16]

Από το 1986 έως το 2004, αρκετές πληθυσμιακές μελέτες βασίστηκαν σε περίπου 14.700 βρέφη εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης (ELBW) από τη Βόρεια Αμερική, τη Δυτική Ευρώπη, το Ηνωμένο Βασίλειο, την Αυστραλία και την Ιαπωνία. Τα αποτελέσματα των μελετών δείχνουν αλλαγές στην επιβίωση με την πάροδο του χρόνου όπου καταγράφηκαν βελτιωμένοι ρυθμοί επιβίωσης με την πάροδο του χρόνου. Το όριο βιωσιμότητας φαίνεται να βελτιώθηκε από περίπου 25-26 εβδομάδες στη δεκαετία του 1990 σε περίπου 23-24 εβδομάδες κατά τα μέσα της δεκαετίας του 2000. Η αυξημένη επιβίωση εξαιρετικά πρόωρων νεογνών ενέτεινε την ανησυχία για αύξηση του αριθμού των παιδιών που παρουσιάζουν σοβαρές οξείες και χρόνιες νοσηρότητες (π.χ. ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH), νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEC), βρογχοπνευμονική δυσπλασία (BPD) εγκεφαλική δυσλειτουργία κ.α. Οι Eichenwald και Stark έχουν συστηματικά τεκμηριώσει την κρίσιμη σημασία της ηλικίας κύησης για την επιβίωση σε μια πληθυσμιακή μελέτη γεννήσεων μεταξύ 1997 και 2002 σημειώνοντας βραχυπρόθεσμη επιβίωση χωρίς επιπλοκές ως συνάρτηση του βάρους γέννησης (~ 20% 501-750 g, ~ 50%, 751-1000 g, ~ 70%, 1001-1250 g, ~ 90%, 1251-1500). Συγκρίνοντας αρκετές εποχές (1991-1996 έναντι 1997-2002), φαίνεται ότι η βελτιωμένη επιβίωση συνοδεύεται από υψηλά ποσοστά νοσηρότητας, τα οποία δεν ακολουθούν το πρότυπο της βελτιωμένης επιβίωσης. Από το 1997 έως το 2002, η συνολική επιβίωση αναλόγως του βάρους γέννησης του βρέφους ήταν 55% για βρέφη βάρους 501-750g, 88% για 751-1000g, 94% για 1001-1250g και 96% για 1251-1500g.^[17,18]

1.3. Επιδημιολογία.

Η επίπτωση της NEC σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με το βάρος γέννησης, με την πλειοψηφία των ασθενών να έχουν ιδιαίτερα χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση (VLBW). Μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι ασθενείς VLBW με NEC που υποβάλλονται σε μια χειρουργική επέμβαση πάσχουν από πιο σοβαρή μορφή της νόσου από εκείνους που αντιμετωπίζονται με συντηρητική αγωγή.^[19]

Η πρώτη επιδημιολογική μελέτη διενεργήθηκε μεταξύ 1953-1963 από τους Misrahi, Barlow, Berdon όπου, βρέθηκε μέση συχνότητα εμφάνισης 0,9% (18/1960), και θνητότητα ιδιαίτερα υψηλή της τάξης του 89% (16/18). Το 95% των περιπτώσεων NEC αφορούσε βρέφη με σωματικό βάρος <1.500g, η μαύρη φυλή είχε μια ελαφρά υπεροχή συγκριτικά με τους Καυκάσιους (1,7/1), υπεροχή των θήλεων έναντι των αρένων (13/5), προ- ή περιγεννητικές λοιμώξεις της μητέρας όπως πρόωρη ρήξη υμένων, χοριοαμνιονίτιδα και πυρετός (56%). Μεταξύ αυτών, έγινε προσπάθεια απόδειξης λοιμογόνων παραγόντων από τις καλλιέργειες καθώς αναδείχθηκαν σε αυτές μικροβιακά στελέχη όπως *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* και *Staphylococcus aureus*.^[8]

Κατά τις δεκαετίες 1970-80 ξεκίνησαν επιδημιολογικές μελέτες οι οποίες όμως διαφέρουν αρκετά στα χαρακτηριστικά των ασθενών, την κατηγοριοποίηση αναλόγως βάρους γέννησης καθώς και την ταξινόμηση της βαρύτητας της νόσου βάσει των κριτηρίων Bell και της τροποποίησής τους. Στα τέλη της δεκαετίας του 1970 στην πολιτεία της Georgia των Η.Π.Α. αναφέρεται επίπτωση της τάξης του 0,9/1000 γεννήσεις, αυξάνει όμως δραματικά σε 42/1000 γεννήσεις σε νεογνά <1000g. Αναλόγως αύξανε και η θνητότητα που φτάνει το 63% σε αυτή την κατηγορία. Η ολική θνητότητα αγγίζει το 40%.^[20] Κατά τα έτη 1981-1984 επί 240 τεκμηριωμένων περιπτώσεων NEC από 100 κέντρα του Ηνωμένου Βασιλείου και Ιρλανδίας, αποδίδεται μια ετήσια επίπτωση 0,3/1000 γεννήσεις. Γίνεται συσχέτιση με το βάρος σώματος κατά τη γέννηση όπου φαίνεται η σαφής υπεροχή των πολύ χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών με επίπτωση που φτάνει τα 9,5/1000 γεννήσεις σε νεογνά <1000g. Επίσης η θνητότητα αυξάνει όσο το σωματικό βάρος μειώνεται, ξεπερνώντας το 40% για νεογνά <1000g. Αντίστοιχα για νεογνά που ζύγισαν >1500g η θνητότητα μόλις που αγγίζει το 11%. Η ηλικία κύησης επίσης αποδεικνύεται καθοριστικός παράγοντας όσον αφορά τη νοσηρότητα και θνητότητα. Το 42% των ασθενών με NEC είχε ηλικία κύησης <30w με τη θνητότητα αυτών να ξεπερνά το 36%. Σε αυτή τη μελέτη επιβεβαιώνονται τα ευρήματα των Misrahi et al, για ελαφρά υπεροχή των θήλεων έναντι των αρένων (124/109).^[21]

Το βάρος γέννησης παίζει σημαντικό ρόλο όπως αποδεικνύεται και από μεταγενέστερες μελέτες. Στη μεγαλύτερη από πλευράς όγκου ασθενών, που πραγματοποιήθηκε στο διάστημα 2006-2010 σε 655 κέντρα στις ΗΠΑ, επί 188.703 πρόωρων νεογνών, 17.156 διαγνώστηκαν με νεκρωτική εντεροκολίτιδα. Η συνολική θνητότητα ήταν αντιστρόφως ανάλογη του βάρους γέννησης και βρέθηκε

σε επίπεδα της τάξης του 28%. Έγινε συσχέτιση με τον τρόπο αντιμετώπισης: 8.221 ασθενείς με συντηρητική αντιμετώπιση και 8.935 με χειρουργική, είτε λαπαροτομία είτε με τη μέθοδο περιτοναϊκής παροχέτευσης (peritoneal drainage) η οποία πρωτοεφαρμόστηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1970. Η θνητότητα στην ομάδα της συντηρητικής αντιμετώπισης ήταν συνολικά 21%, με σημαντικά χαμηλότερη θνητότητα σε νεογνά με μεγαλύτερο βάρος γέννησης. Στην ομάδα της χειρουργικής αντιμετώπισης όμως η θνητότητα ήταν 35% ($p < 0,0001$) και δεν ακολούθησε πρότυπο σταθερής μείωσης με την αύξηση του βάρους γέννησης. Ενώ στην κατηγορία των 401-500g η θνητότητα ήταν 52% σε αμφότερες τις κατηγορίες, στα 1001-1250g 11% και 27% και στα 1251-1500g 6% και 28% αντίστοιχα. Η χορήγηση κορτικοστεροειδών περιγεννητικά, βρέθηκε να σχετίζεται με χειρουργική παρέμβαση, ενώ άλλοι παράγοντες όπως καρδιακές συμπίεσεις, διασωλήνωση, χορήγηση επινεφρίνης και πρόωμη σήψη όχι. Σημαντική είναι και η διαφορά στη θνητότητα αναλόγως του τρόπου χειρουργικής αντιμετώπισης. Η λαπαροτομία εμφανίζει χαμηλότερα ποσοστά συνολικής θνητότητας συγκριτικά με την τεχνική peritoneal drainage 31% έναντι 50% ($p < 0.0001$), με διαφοροποιήσεις αναλόγως του βάρους γέννησης. Σε παρόμοια –μικρότερη- μελέτη τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 30% και 57%.^[22] Όσον αφορά το φύλο φαίνεται η υπεροχή των αρένων (~55-45%).^[18,21] Σε μελέτη που διεξήχθη κατά τα έτη 2005-2006 και συμπεριλήφθηκαν 71.808 νεογνά με βάρος γέννησης από 500 έως 1.500g η συχνότητα εμφάνισης είναι περίπου 7%. Μετά την ταξινόμηση σε 4 κατηγορίες ανά 250g, ο σχετικός κίνδυνος βρέθηκε 12%, 9,2%, 5,7% και 3,3% και η θνητότητα 42%, 29,4%, 21,3% και 15,9% αντίστοιχα.^[23] Παρόμοια ευρήματα έχουν δημοσιευτεί σε μελέτη στον Καναδά, όπου η συχνότητα εμφάνισης σε νεογνά <1500g άγγιξε το 6,5% ενώ σε αυτά >1500g μόλις το 0,67%. Το 55% των ασθενών σε αυτή τη μελέτη ήταν άρρενες.^[24]

Παρότι η συνολική θνητότητα φαίνεται να φθίνει, συμβαίνει το αντίστροφο όσον αφορά τη θνητότητα της NEC. Στις συγκριτικές μελέτες EPOCH I,II και III που συμμετείχαν 680.000 νεογνά για διάστημα 21 ετών παρατηρήθηκε μείωση της συνολικής θνητότητας σχεδόν κατά το ήμισυ, σε αντίθεση με τη NEC της οποίας η συνολική θνητότητα σχεδόν διπλασιάστηκε από 7,35/1000 γεννήσεις στην EPOCH I, σε 15,3/1000 γεννήσεις στην EPOCH III.^[25]

Γενικά η συχνότητα εμφάνισης NEC στη βιβλιογραφία αναφέρεται από 0,7-5/1000 γεννήσεις. Η θνητότητα είναι υψηλή έως 63%, στα ιδιαίτερα χαμηλού βάρους νεογνά (VLBW) καθώς και στο στάδιο III των κριτηρίων κατά Bell που φτάνει ακόμη και το 87%. Το ίδιο πρότυπο ακολουθεί και η μικρή ηλικία κύησης με τη θνητότητα να φτάνει το 38% σε πρόωρα νεογνά 24-27 εβδομάδων.^[26]

1.4. Κόστος νοσηλείας.

Από πρόσφατη μελέτη προερχόμενη από τις Η.Π.Α. το μέσο κόστος αντιμετώπισης με τη μέθοδο peritoneal drainage ανέρχεται σε 276.076\$ (196.238–388.394\$), peritoneal drainage και

λαπαροτομή στα 398.173\$ (287.784–550.907\$) και λαπαροτομή στα 341.911\$ (251.304–465.186\$). Αναφορά επίσης γίνεται στο συνολικό κόστος νοσηλείας ανάλογα με την εντόπιση της νόσου. Έτσι το κόστος νοσηλείας νεογνών με εντόπιση νόσου στο παχύ έντερο, λεπτό, λεπτό + παχύ ανέρχεται σε 393.798\$, 431.663\$ και 513.875\$ αντίστοιχα. Το συνολικό ετήσιο εκτιμώμενο κόστος φροντίδας των προσβεβλημένων βρεφών στις Η.Π.Α. κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 1 δις δολαρίων.^[4,22,27]

1.5. Κλινική εικόνα - διάγνωση.

Η νεογνική NEC χαρακτηρίζεται από ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων με αποτέλεσμα ένα ευρύ φάσμα σοβαρότητας, επιπλοκών και θνησιμότητας. Η νόσος μπορεί να εκδηλωθεί με ήπια σημεία και συμπτώματα, όπως η ήπια κοιλιακή διάταση, δυσανεξία στη σίτιση και αυξημένο γαστρικό υπόλειμμα. Λιγότερο συχνά, όταν εμπλέκεται και ο στόμαχος, μπορεί να εκδηλωθεί αιματέμεση ή γαστρικό υπόλειμμα με αιματηρό περιεχόμενο. Από την άλλη πλευρά, το βρέφος μπορεί να παρουσιάσει έντονη κοιλιακή διάταση, ευαισθησία, σοκ και σημεία περιτονίτιδας και να προχωρήσει γρήγορα σε εντερική διάτρηση και θάνατο εντός 24ώρου. Το βρέφος γενικά προτιμά να παίρνει μια θέση σαν "πόδι βατράχου". Η διάτρηση του εντέρου μπορεί να προκαλέσει κυανή ή αποχρωματισμένη κοιλιά και πρέπει να γίνει η διαφοροδιάγνωση ανάμεσα στη NEC και την SIP (spontaneous intestinal perforation). Σε ένα άρρεν βρέφος, μπορεί να εμφανιστεί ερύθημα ή κυανός χρωματισμός του οσχέου, εάν το περιτοναϊκό υγρό εισέλθει στο όσχεο, σε περίπτωση π.χ. κήλης. Μη ειδικά σημεία NEC μπορεί επίσης να βρεθούν σε πολλές νεογνικές ασθένειες, όπως σηψαιμία, υπογλυκαιμία και ενδοκοιλιακή αιμορραγία και περιλαμβάνουν άπνοια, βραδυκαρδία, λήθαργο, αστάθεια θερμοκρασίας, κακή πλήρωση τριχοειδών και «σηπτική» εμφάνιση. Τα ειδικά ευρήματα περιλαμβάνουν, κατά φθίνουσα συχνότητα, κοιλιακή διάταση και ευαισθησία, παρουσία αίματος στα κόπρανα, ερύθημα πρόσθιου κοιλιακού τοιχώματος και ψηλαφητή μάζα δεξιού λαγονίου βόθρου (Πίνακας 2). Όταν αυτές οι τελευταίες εκδηλώσεις είναι παρούσες, πρέπει να εξεταστεί η διάγνωση της NEC και να διεξαχθεί ενδελεχής αξιολόγηση.^[14,28]

Ειδικά σημεία	Μη ειδικά σημεία
Κοιλιακή διάταση	Άπνοια και βραδυκαρδία
Ευαισθησία	Shock
Αίμα στις κενώσεις	Λήθαργος
Χολώδεις έμετοι	Οξέωση
Αυξημένο γαστρικό υπόλειμμα	Διαταραχές θερμορύθμισης
Ερύθημα κοιλιακού τοιχώματος	Κυάνωση
Ψηλαφητή μάζα δεξιού λαγονίου βόθρου	
Διάρροιες	

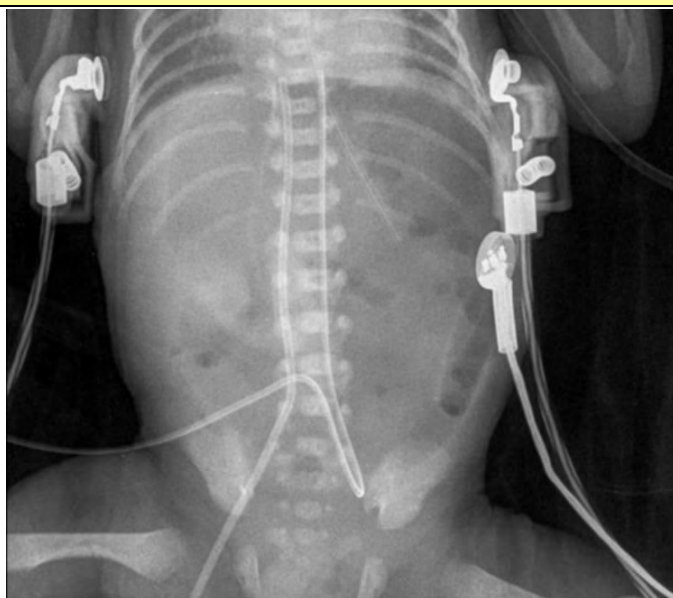
Πίνακας 2. Ειδικά και μη ειδικά σημεία Νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Ανατύπωση από: Kliegman RM, Walsh MC. Neonatal necrotizing enterocolitis: pathogenesis, classification, and spectrum of illness. Curr Probl Pediatr. 1987 Apr;17(4):213-88.

Όπως προαναφέρθηκε, η νόσος μπορεί να εισβάλλει με διάφορες μορφές αποτελώντας έναν διαγνωστικό χαμαιλέοντα. Τα πολύ πρόωρα βρέφη δεν εκδηλώνουν ευαισθησία και αντίσταση των

κοιλιακών τοιχωμάτων (guarding) εκτός αν η κατάσταση είναι ήδη προχωρημένη. Ως εκ τούτου, απαιτείται υψηλός δείκτης υποψίας για την τεκμηρίωση της διάγνωσης. Σε περίπτωση προσβολής του άπω παχέος εντέρου μπορεί να εμφανιστεί μόνο αιματοχεσία χωρίς άλλα αρχικά σημεία. Από την άλλη, εάν η νήστιδα και ο τελικός ειλεός είναι οι κυρίαρχες θέσεις προσβολής τότε οι έμετοι, το αυξημένο γαστρικό υπόλειμμα ή/και η κοιλιακή διάταση είναι τα πιθανότερα αρχικά κλινικά σημεία.^[28]



Εικόνα 1 (πάνω). Πνευμοπεριτόναιο (Decubitus λήψη). Εικόνα 2 (κάτω). Ελεύθερος αέρας υποδιαφραγματικά (ευκρινέστερα αριστερά, κόκκινα βέλη) και θέσης ποδιού βατράχου. Προσωπικό αρχείο.



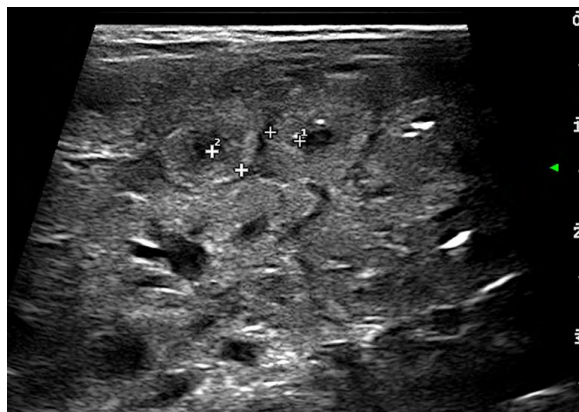
Τα εξαιρετικά πρόωρα βρέφη με NEC είναι πιθανότερο να εμφανίσουν κοιλιακή διάταση, ειλεό και έμετους. Είναι λιγότερο πιθανό να παρουσιάσουν πνευμάτωση του εντέρου, αλλά πιο πιθανό να αναπτύξουν πνευμοπεριτόναιο (Εικόνες 1 και 2). Πράγματι σε πρόσφατη μελέτη φάνηκε η ανομοιογένεια της νόσου όσον αφορά την κλινική εικόνα και μάλιστα αναλόγως της ηλικίας της κύησης. Έτσι, σε σύγκριση ομάδων νεογνών με ηλικία κύησης 23-26 εβδομάδες και 35-36 εβδομάδες, η νόσος

εκδηλώνεται με ειλεό σε ποσοστά 77% έναντι 38%, πνευμοπεριτόναιο 54% έναντι 8%, αιματηρές κενώσεις 17% έναντι 46%, αέρας στην πυλαία 10% έναντι 46% αντίστοιχα.^[28,29]

Αφού τεθεί η υποψία NEC, εργαστηριακός και ακτινολογικός έλεγχος πρέπει να πραγματοποιηθούν για την οριστική διάγνωση καθώς και τη διαχείριση του περιστατικού. Κανένας εργαστηριακός έλεγχος δεν είναι διαγνωστικός, αλλά οι αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις

μπορούν να υποστηρίξουν τη διάγνωση. Η σοβαρή ή επίμονη θρομβοπενία, η ουδετεροπενία, οι διαταραχές πηκτικότητας ή η οξέωση μπορεί να υποδηλώνουν σοβαρή νόσο. Έχει δειχθεί πως σε νεογνά με NEC σταδίου II ή III κατά Bell, με πρόιμη ή εμμένουσα σοβαρή θρομβοπενία είχαν περισσότερες πιθανότητες να παρουσιάσουν αυξημένη θνησιμότητα και νοσηρότητα και ήταν πιο πιθανό να υποβληθούν σε χειρουργική παρέμβαση για γάγγραινα του εντέρου. Στην ίδια μελέτη φαίνεται επίσης ότι οι ασθενείς που χρειάστηκαν λαπαροτομία ή πέθαναν, είχαν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό αιμοπεταλίων σε σύγκριση με αυτούς που έζησαν ή δεν χρειάστηκαν χειρουργική παρέμβαση. Σε παρόμοια μελέτη φαίνεται πως κανένας από τους ασθενείς με αριθμό αιμοπεταλίων μεγαλύτερο από $100.000/\text{mm}^3$ κατά τη διάρκεια της νόσου δεν απεβίωσε. Ομοίως, ο προεγχειρητικός αριθμός αιμοπεταλίων ήταν χαμηλότερος σε ασθενείς που απεβίωσαν ($31.000/\text{mm}^3$) συγκριτικά με αυτά των ασθενών που επιβίωσαν ($100.000/\text{mm}^3$, $P = 0.001$). Οι Pourcygous και συνεργάτες χρησιμοποίησαν επιτυχώς διαδοχικές μετρήσεις CRP για τη διάκριση του σταδίου I κατά Bell από ειλεό ή καλοήγητη πνευμάτωση και έδειξαν ότι η επίμονα υψηλή CRP σχετιζόταν με την ανάπτυξη επιπλοκών, όπως στένωση ή απόστημα, ή ανάγκη για χειρουργική επέμβαση. Σημειώτεον ότι τα νεογνά με εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης έχουν υψηλότερο αιματοκρίτη, χαμηλότερα αιμοπετάλια και μεγαλύτερου βαθμού οξέωση σε σχέση με τα υπόλοιπα νεογνά.^[30-33]

Η απεικόνιση της NEC αντιπροσωπεύεται ιστορικά από τις απλές ακτινογραφίες κοιλίας οι οποίες μπορούν να πραγματοποιηθούν κάθε 6 ώρες λόγω της ταχείας εξέλιξης που μπορεί να εμφανιστεί στην κλινική κατάσταση του ασθενούς. Το υπερηχογράφημα, διαδραματίζει έναν όλο και πιο σημαντικό ρόλο στην αξιολόγηση των πρόιμων σταδίων της νόσου. Η απλή ακτινογραφία είναι



Εικόνα 3. πάχυνση εντερικού τοιχώματος. Ανατύπωση από: Esposito F, Mamone R, Di Serafino M. Diagnostic imaging features of necrotizing enterocolitis: a narrative review. Quant Imaging Med Surg 2017;7(3):336-344

διαχρονικά χρήσιμη στην ανίχνευση ελεύθερου αέρα ενδοπεριτοναϊκά είτε σε ύπτια θέση είτε decubitus. Στα πρόιμα, μη ειδικά σημεία περιλαμβάνονται η διάχυτη διάταση και μη συμμετρική κατανομή αέρα εντός του εντέρου. Ακτινολογικά σημεία που θέτουν τη διάγνωση είναι η παρουσία αέρα ενδοτοιχωματικά (pneumatosis intestinalis), και η ύπαρξη αέρα εντός της πυλαίας. Η πνευμάτωση μπορεί να έχει γραμμική εμφάνιση όταν ο ενδοτοιχωματικός αέρας βρίσκεται υποορογόνια ή μια εμφάνιση φυσαλίδων όταν ο αέρας βρίσκεται

υποβλεννογόνια. Το τελευταίο μπορεί να συγχέεται με τα κόπρανα, αλλά η ακτινολογική εμφάνιση των κοπράνων είναι σπάνια σε πρόωρα βρέφη μικρότερα των 2 εβδομάδων. Η παρουσία αέρα εντός

της πυλαίας εμφανίζεται ως γραμμικές και διακλαδιζόμενες διαυγαστικές περιοχές εντός του ήπατος και μπορούν να ανιχνευτούν τόσο με απλή ακτινογραφία, όσο και με υπερηχογράφημα.^[30,34]

Το υπερηχογράφημα έχει πλεονεκτήματα, καθώς παρέχει εικόνες σε πραγματικό χρόνο και δυνατότητα εκτίμησης του περισταλισμού των εντερικών ελίκων, επιτρέπει την ανίχνευση της παρουσίας ακόμη και ελάχιστων ποσοτήτων υγρού στην περιτοναϊκή κοιλότητα και επιτρέπει την ακριβή ανίχνευση του πάχους του εντερικού τοιχώματος (εικόνα 3, παθολογικό > 2,6 mm) καθώς και την αξιολόγηση της παρουσίας, απουσίας ή μείωσης της άρδευσης τοιχώματος (Doppler). Στα πλεονεκτήματά του περιλαμβάνονται η δυνατότητα ανίχνευσης σημείων αρχόμενης πνευμάτωσης με την παρουσία μικροφουσαλίδων στο εντερικό τοίχωμα που εμφανίζονται ως υπερηχοϊκές κηλίδες, την παρουσία μικρών υπερηχοϊκών κηλίδων, ως την ύπαρξη μικρών φουσαλίδων αέρα μεταξύ της πρόσθιας επιφάνειας του ήπατος και του κοιλιακού τοιχώματος ή μεταξύ των εντερικών ελίκων, το οποίο σημαίνει εντερική διάτρηση. Επίσης είναι δυνατή η εκτίμηση του βαθμού ισχαιμίας του εντερικού τοιχώματος και η ύπαρξη μικρής ποσότητας ελεύθερου υγρού ανάμεσα στις εντερικές έλικες.^[34]

1.6. Αυτόματη εντερική διάτρηση (Spontaneous intestinal perforation).

Υπάρχουν πολλές καταστάσεις που ομοιάζουν με τη NEC. Μεταξύ των πρόωρων βρεφών, η αυτόματη εντερική διάτρηση έχει μερικές φορές κατηγοριοποιηθεί ως NEC αλλά πιθανώς αντιπροσωπεύει μια διαφορετική οντότητα με διαφορετική παθογένεια. Αυτόματη εντερική διάτρηση εμφανίζεται συνήθως τις πρώτες αρκετές ημέρες μετά τη γέννηση και δεν συνδέεται με την εντερική σίτιση, αντίθετα έχει συσχετιστεί με τη χορήγηση ινδομεθακίνης και γλυκοκορτικοειδών όπως δεξαμεθαζόνη ή υδροκορτιζόνη. Αυτή η διαταραχή έχει ξεχωριστή, μη ισχαιμική ιστοπαθολογία και χαρακτηρίζεται από ελάχιστη εντερική φλεγμονή, τμηματική νέκρωση με καλή ακεραιότητα του βλεννογόνου, όπως αποδεικνύεται και από τα χαμηλά επίπεδα φλεγμονωδών κυταροκινών στον ορό. Αντίθετα, η πηκτική νέκρωση του βλεννογόνου με εστιακή αιμορραγία είναι γενικό εύρημα στο NEC και θεωρείται ότι συσχετίζεται με την ισχαιμία.^[4,35]

1.7. Παθολογική ανατομική.

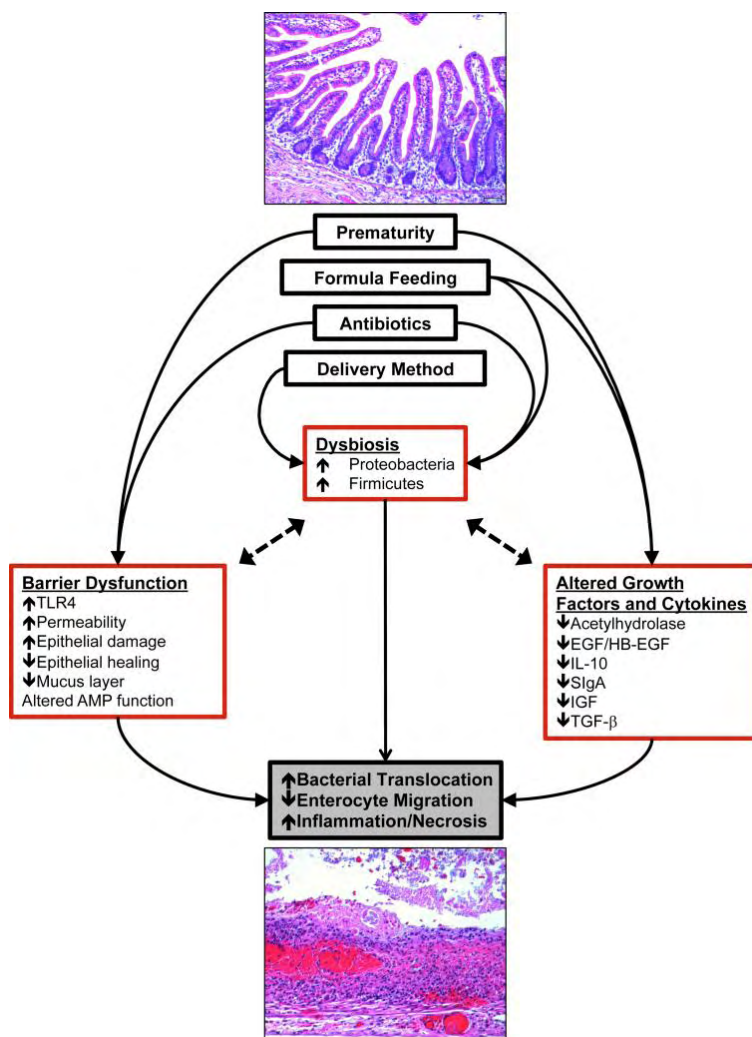
Οι παθολογοανατόμοι έχουν από καιρό θεωρήσει τη NEC ως μια μορφή ισχαιμικής νόσου του εντέρου με την πηκτική νέκρωση να είναι το κυρίαρχο ιστολογικό εύρημα. Η ιστολογική εικόνα της NEC είναι αναπόφευκτα παρόμοια με εκείνη άλλων νόσων του εντέρου που είναι γνωστό ότι είναι ισχαιμικές. Βλεννογονική και τελικά διατοιχωματική πηκτική νέκρωση, συμφόρηση, αιμορραγία, υποβλεννογόνο οίδημα, έλκος και φαινόμενα αποκατάστασης είναι κοινά. Η ειλεοκολική εντόπιση

της NEC στις περισσότερες περιπτώσεις υποδηλώνει ισχαιμική αιτία, επειδή οι αρτηρίες που τροφοδοτούν την περιοχή ειλεού - τυφλού είναι πιο απομακρυσμένες από την προέλευση της άνω μεσεντέριας αρτηρίας από ό,τι οι αρτηρίες που τροφοδοτούν περισσότερο το εγγύς έντερο. Οι πιο τοπικές αιτίες της ισχαιμίας, όπως η εντερική διάταση ή η έντονη εντερική πνευμάτωση, μπορεί να συμβάλλουν ή να ενισχύσουν τη διαδικασία.^[36]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο.

2.1. Παθοφυσιολογία.

Η παθογένεια της NEC δεν είναι πλήρως κατανοητή αλλά είναι πιθανόν πολυπαραγοντική. Ο συνδυασμός της προωρότητας, ποικίλων πρακτικών σίτισης και ο βακτηριακός αποικισμός, φαίνεται να παίζουν τους καθοριστικούς παράγοντες (εικόνα 4). Έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες για να εξηγηθεί ο μηχανισμός πίσω από την ανάπτυξη της νόσου, με μια κύρια άποψη: ότι φαίνεται να αντιπροσωπεύει μια υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος σε κάποιο είδος



Εικόνα 4. Σχηματικά το μοντέλο της παθοφυσιολογίας της NEC. Ανατύπωση από: Tanner SM, Berryhill TF, Ellenburg JL et al.. Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. Modeling the Innate Immune Response. Am J Pathol. 2015 Jan; 185(1): 4–16.

διάφορους τρόπους επειδή δεν είχε την ευκαιρία να αναπτυχθεί πλήρως. Η εντερική κινητικότητα συνήθως αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου, με μεταναστευτικά κινητικά σύμπλοκα

προσβολής όπως για παράδειγμα ισχαιμία, λοίμωξη, εισαγωγή εντερικής τροφής. Αυτή η προσβολή οδηγεί σε διάσπαση του εντερικού επιθηλίου, βακτηριακή μετατόπιση (translocation) και υπέρμετρη αντίδραση των ανώριμων εντερικών επιθηλιακών κυττάρων. Υπάρχει ενεργοποίηση των οδών στρες και καταστολή των ανασταλτικών μονοπατιών που οδηγεί σε ακατάλληλη κινητοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή και απελευθέρωση κυταροκινών. Το αποτέλεσμα είναι ένας φαύλος κύκλος απεριόριστης φλεγμονώδους απόκρισης που έχει διάχυτες, επιβλαβείς επιδράσεις. Η ανωριμότητα των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων στο πρόωρο βρέφος φαίνεται να συνεισφέρει στην παθογένεια. Η ακεραιότητα του εντερικού φραγμού του πρόωρου βρέφους διακυβεύεται με

που εμφανίζονται περί την 34^η εβδομάδα. Τα πρόωρα νεογνά δεν έχουν αναπτύξει ακόμα συντονισμένο περισταλτισμό. Ως εκ τούτου, το εντερικό επιθήλιο μπορεί να είναι εκτεθειμένο σε παρατεταμένη έκθεση σε δυνητικά επιβλαβείς ουσίες. Οι ανώριμες βλεννώδεις εκκρίσεις και οι ακατάλληλα διαμορφωμένες συνδέσεις των εντεροκυττάρων, οδηγούν σε αυξημένη διαπερατότητα και σε εξασθενημένη αναγέννηση του εντερικού φραγμού.^[37,38]

2.1.1. Γενετικοί παράγοντες.

Παρόλο που η συχνότητα εμφάνισης NEC σε πανομοιότυπα δίδυμα είναι υψηλότερη από τον γενικό πληθυσμό, η επιρροή των γενετικών παραγόντων είναι μικρή. Οι Bhandari et al. ανέφεραν NEC σε ένα ή αμφότερα τα δίδυμα σε 9 (14%) από 63 ζεύγη μονοζυγωτικών δίδυμων και σε 29 (15%) από 189 ζεύγη διζυγωτικών δίδυμων. Μετά τον έλεγχο των μεταβλητών παραμέτρων, οι γενετικοί παράγοντες δεν ήταν σημαντικοί. Η NEC έχει συσχετισθεί με πολυμορφισμούς ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) στον υποδοχέα της IL-4 (+1902G, προστατευτικό), IL-18 (-607A, αυξημένη σοβαρότητα), αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (+450C, αυξημένος κίνδυνος) και καρβαμοϋλ-φωσφορική συνθετάση1 (T450N, αυξημένος κίνδυνος). Επίσης, οι γενετικοί πολυμορφισμοί των CD14, TLR4 και NOD2 δεν σχετίζονται με NEC σε βρέφη πολύ χαμηλού βάρους γέννησης.^[39,40]

Πιο πρόσφατα, οι Sampath et al., παρακολούθησαν μια ομάδα 271 πρόωρων βρεφών, όπου 15 βρέφη (5,6%) ανέπτυξαν NEC. Παρατήρησαν την παραλλαγή NFKB1 (g.-24519delATTG) σε όλα τα βρέφη με NEC αλλά μόνο στο 65% των βρεφών χωρίς NEC (p=0,003). Αντίθετα, η παραλλαγή NFKB1A (g.-1004A> G) ήταν παρούσα στο 13,3% των βρεφών με NEC αλλά στο 49% των βρεφών χωρίς NEC (p=0,007).^[41]

2.1.2. Ισχαιμία.

Η ισχαιμία είναι σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη της NEC. Στο νεογνικό έντερο, η ροή αίματος στην ευαίσθητη μικροκυκλοφορία προσδιορίζεται κυρίως από την ηρεμία της αγγειακής αντίστασης το οποίο σημαίνει αυξημένη ροή αίματος. Εξωγενώς, αυτό επηρεάζεται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα και τα καρδιαγγειακά αντανακλαστικά. Δύο παράγοντες που μεσολαβούν σε αυτή τη λεπτή ισορροπία είναι η αγγειοσυσταλτική ενδοθηλίνη-1 (ET-1), και το αγγειοδιασταλτικό-οξειδιο του Αζώτου (NO). Η δυναμική αλληλεπίδραση μεταξύ των αγγειοσυσταλτικών δυνάμεων που κυριαρχούνται από την ET-1 και αγγειοδιασταλτικών δυνάμεων που κυριαρχούνται από το NO, ελέγχουν σε μεγάλο βαθμό την περιφερειακή ροή της μικροκυκλοφορίας και την τοπική εντερική ισχαιμία στο έντερο του νεογέννητου. Η δυσλειτουργία αυτής της ευαίσθητης ισορροπίας υπέρ της αγγειοσυστολής έχει παρατηρηθεί τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και σε επιβεβαιωμένη NEC. Γενικά,

στα νεογνά επικρατεί το οξειδίου του Αζώτου το οποίο συνεπάγεται χαμηλή συστηματική αγγειακή αντίσταση. Παθολογικές καταστάσεις που προκαλούν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, οδηγούν σε ενεργοποίηση ενδοθηλίνης-1 και κατά συνέπεια αγγειοσυστολή, εντερική ισχαιμία, και κυτταρική βλάβη. Αυτός ο μηχανισμός είναι συμβατός με την ιστολογική διαπίστωση της πηκτικής νέκρωσης της NEC.^[37,42,43]

2.1.3. Ο ρόλος του NO και της Ενδοθηλίνης-1

Το NO είναι το προϊόν καταλυτικής μετατροπής αργινίνης και οξυγόνου, σε NO και κιτρουλλίνη, με καταλύτη τη συνθετάση του NO (NOS). Υπάρχουν τρεις ισομορφές της NOS. Δύο από αυτές τις ισομορφές, η ενδοθηλιακή NOS (eNOS) και η νευρωνική NOS (nNOS) εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα και παράγουν συγκεντρώσεις NO σε επίπεδα pmol. Η τρίτη ισομορφή, η επαγωγίμη NOS (iNOS), δεν εκφράζεται υπό κανονικές συνθήκες, αλλά επάγεται σε υψηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Μόλις εκφράζεται η iNOS, παράγει NO σε συγκεντρώσεις nmol έως μmol. Παρότι δεν δρα τοξικά υπό φυσιολογικές συνθήκες, σε συνθήκες φλεγμονής μπορεί να είναι τοξικό για διάφορους λόγους. Πρώτον, η επαγωγή της iNOS κατά τη διάρκεια της φλεγμονής οδηγεί σε τοπικές συγκεντρώσεις NO σε επίπεδα 1000πλάσια από τις κανονικές συνθήκες. Δεύτερον, αντίθετα από το NO που προέρχεται από eNOS, το NO που προέρχεται από iNOS δεν αποβάλλεται ταχέως από τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Τρίτον, απουσία της αντίδρασης με αιμοσφαιρίνη που παράγει σχετικά μη τοξικά είδη νιτρικών αλάτων, το NO μπορεί να αντιδράσει με ανιόν υπεροξειδίου (O_2^{2-}), το οποίο παράγει τον εξαιρετικά τοξική υπεροξυνιτρώδη ρίζα (peroxynitrite ONOO⁻).^[44]

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η παραγωγή peroxynitrite θα είναι χαμηλή και η οξειδωτική βλάβη ελαχιστοποιείται από ενδογενείς αντιοξειδωτικές άμυνες. Ακόμα και μέτριες αυξήσεις στην ταυτόχρονη παραγωγή υπεροξειδίου και NO θα διεγείρουν σε μεγάλο βαθμό τον σχηματισμό peroxynitrite. Δεκαπλάσια αύξηση παραγωγής NO θα αυξήσει τον σχηματισμό peroxynitrite κατά 100 φορές. Ακόμη και η δημιουργία μίας μέτριας ροής peroxynitrite για μακρές χρονικές περιόδους θα έχει ως αποτέλεσμα σημαντική οξείδωση και καταστροφή κυτταρικών συστατικών του ξενιστή, οδηγώντας σε δυσλειτουργία κρίσιμων κυτταρικών διεργασιών και επαγωγή κυτταρικού θανάτου μέσω απόπτωσης και νέκρωσης.^[45]

Η ενδοθηλίνη-1 (ET-1) είναι μια αγγειοδραστική και μιτογόνο πρωτεΐνη που έχει τόσο αγγειοσυσταλτικές όσο και αγγειογόνες ιδιότητες, παράγεται από ενδοθηλιακά κύτταρα και δρα ως πρωτογενής αγγειοσυσταλτικός παράγοντας στο νεογνικό εντερικό αγγειακό σύστημα. Εφαρμόζει τα βιολογικά της αποτελέσματα δεσμεύοντας τον υποδοχέα ενδοθηλίνης τύπου A (ETA) και τον υποδοχέα ενδοθηλίνης τύπου B (ETB), προκαλώντας αγγειοσύσπαση. Υπό βασικές συνθήκες, η παραγωγή της ET-1 είναι μεγαλύτερη σε νεότερα άτομα. Η αυξημένη παραγωγή ET-1 διεγείρεται

τοπικά με μειωμένη ροή αίματος, υποξία και διάφορες φλεγμονώδεις κυταροκίνες. Η έκφραση ET-1 επάγεται από μια ποικιλία φλεγμονωδών κυτοκινών. Σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, η IL-1 αυξάνει την έκφραση της ET-1.^[43]

2.1.4. NEC σχετιζόμενη με μεταγγίσεις.

Σε αρκετές μεμονωμένες περιγραφές περιστατικών και αναδρομικές μελέτες αναφέρεται χρονική συσχέτιση μεταξύ μεταγγίσεων RBC και NEC. Τα δεδομένα σχετικά με τη συμβολή της μετάγγισης RBC και της αναιμίας στη NEC είναι αντικρουόμενα. Η συσχέτιση μεταξύ μεταγγίσεων RBC και NEC παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τους McGrady et al. το 1987, οι οποίοι διερεύνησαν την εκδήλωση 33 κρουσμάτων NEC στη μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών (NICU) και ανέφεραν ότι οι μεταγγίσεις RBC αύξησαν τον κίνδυνο NEC. Το 1998, οι Bednarek et al. σύγκριναν τις πρακτικές μετάγγισης σε βρέφη VLBW σε έξι NICUs και διαπιστώθηκε ότι οι NICU με λιγότερες μεταγγίσεις είχαν χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης NEC. Εως το 2006, πολλαπλές μελέτες διενεργήθηκαν με ανομοιογένεια στις παραμέτρους, αν και διαφαίνονται ορισμένα κοινά στοιχεία.^[46]

Σε μελέτη 598 ασθενών (2016), με πολυπαραγοντική ανάλυση, η μετάγγιση RBC δεν συσχετίστηκε σημαντικά με την εμφάνιση NEC. Με βάση την αξιολόγηση μετρήσεων αιμοσφαιρίνης (M.O. 7), η πιθανότητα NEC αυξήθηκε σημαντικά μεταξύ των VLBW νεογνών με σοβαρή αναιμία.^[47]

Αναφέρεται στη βιβλιογραφία, η τεκμηρίωση περιπτώσεων βρεφών με υπεργλοιοίτητα λόγω αυξημένου αριθμού ερυθρών που προσβλήθηκαν από NEC και περιγράφεται η συσχέτιση μεταξύ NEC και υπεργλοιοίτητας οφειλόμενης σε αναπνευστική δυσχέρεια η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε υποάρδευση των ιστών.^[48,49]

2.1.5. Χορήγηση κορτικοειδών προ του τοκετού.

Η προγεννητική χορήγηση γλυκοκορτικοειδών θα μπορούσε να μειώσει την πρόσληψη μακρομορίων από το βλεννογόνο, να μειώσει τον αποικισμό με αερόβια βακτήρια, να μειώσει τη βακτηριακή μετατόπιση και να αυξήσει τη δραστηριότητα ενζύμων όπως η λακτάση, η μαλτάση και η Na/K-ATPase, τα οποία έχουν συσχετιστεί με μείωση της NEC. Σημαντική μείωση της συχνότητας εμφάνισης NEC έχει αναφερθεί σε αρκετές μεγάλες, τυχαιοποιημένες μελέτες. Η θεραπεία με προγεννητικά κορτικοστεροειδή συσχετίστηκε με μείωση της συχνότητας εμφάνισης NEC σε μεταανάλυση δεδομένων από 8 μελέτες και συνολικά 1675 νεογνά.^[50,51]

2.1.6. Χορήγηση ινδομεθακίνης ως τοκολυτικό.

Η ινδομεθακίνη, είναι ισχυρός αναστολέας της σύνθεσης των προσταγλανδινών και έχει χρησιμοποιηθεί ως τοκολυτικός παράγοντας. Επειδή η ινδομεθακίνη περνά ελεύθερα τον πλακούντα, μπορεί να επηρεάσει το έμβρυο προκαλώντας σοβαρές επιπλοκές. Οι περισσότερες επιδράσεις που προκαλούνται από ινδομεθακίνη βασίζονται σε μελέτες σε ζώα και πιστεύεται ότι οφείλονται στην αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών. Μπορεί να αποτελέσει προδιαθεσικό παράγοντα της NEC και διάτρησης του εντέρου μέσω της μείωσης της μεσεντερικής ροής του αίματος, και της μεταβολής των αμυντικών μηχανισμών στο γαστρεντερικό του νεογνού.^[52] Σε 27 μελέτες παρατήρησης (μεταανάλυση, 2015) αξιολογήθηκαν συνολικά 8454 βρέφη και βρέθηκε σημαντικά αυξημένος κίνδυνος για NEC στα βρέφη που εκτέθηκαν σε ινδομεθακίνη προγεννητικά (RR, 1,36, 95% CI, 1,08-1,71).^[53]

2.2. Φυσικοί προστατευτικοί φραγμοί

2.2.1. Το εντερικό επιθήλιο – επιθηλιακός φραγμός.

Το εντερικό επιθήλιο αντιπροσωπεύει το πρώτο στρώμα άμυνας και πρέπει να συνυπάρχει συμβιωτικά με τα βακτήρια, διατηρώντας παράλληλα προστασία από πιθανά παθογόνα. Η λειτουργία του εντερικού φραγμού αποτελείται από δομικές και βιοχημικές άμυνες, οι οποίες είναι δεν είναι πλήρως αναπτυγμένες στα πρόωρα βρέφη. Η ρήξη αυτού του φραγμού από παθογόνα, κοινά βακτηρίδια ή μερικώς αφομοιωμένα θρεπτικά συστατικά θα μπορούσε να ενεργοποιήσει φλεγμονώδεις διεργασίες του ευαίσθητου υποβλεννογόνιου. Αυτό θα μπορούσε να ξεκινήσει έναν φαύλο κύκλο επιδείνωσης της βλάβης του εντέρου και της φλεγμονής που χαρακτηρίζει την κλινική εικόνα της NEC. Ο δομικός φραγμός του εντέρου αποτελείται από σφιχτές συνδέσεις (tight junctions) μεταξύ των εντεροκυττάρων που αποτελούν το εντερικό επιθήλιο. Ο φραγμός που αποτελείται από σφιχτές συνδέσεις είναι ο κυριότερος στην αποτροπή μακρομοριακής διάχυσης διαμέσου του επιθηλίου και μπορεί να τροποποιείται η λειτουργία του από ποικίλες κυταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Κάποιοι όπως οι IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-13 αυξάνουν τη διαπερατότητα των συνδέσεων. Αντίθετα κάποιοι άλλοι όπως οι IL-10, IL-17, TGF- β μειώνουν τη διαπερατότητα.^[54,55]

i. **Εντεροκύτταρα.** Τα εντεροκύτταρα (IECs) είναι τα κυρίαρχα απορροφητικά κύτταρα του επιθηλίου, αλλά ο ρόλος τους δεν περιορίζεται στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αντιθέτως, είναι σημαντικά στη διατήρηση της εντερικής ακεραιότητας και της ανοσίας του βλεννογόνου μέσω της διατήρησης σφιχτών συνδέσεων (tight junctions). Αυτές οι συνδέσεις, αρχίζουν να ωριμάζουν στη 10^η εβδομάδα της κύησης, αλλά η πλήρως ανεπτυγμένη λειτουργία του

εντερικού επιθηλιακού φραγμού απαιτεί την ικανότητα ελέγχου της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών και της έκκρισης υγρών, η οποία ωριμάζει υπό την επίδραση του αμνιακού υγρού, από την 26^η εβδομάδα έως και το πέρας της κύησης. Τα IECs προέρχονται από τις εντερικές κρύπτες και μεταναστεύουν στις λάχνες, ανανεώνοντας το επιθήλιο κάθε 3-5 ημέρες σε έναν συνεχή κύκλο πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης και απόπτωσης σε μελέτες με ποντίκια. Ωστόσο, η διαταραχή αυτής της διαδικασίας μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφικές επιπτώσεις, όπως η βακτηριακή μετατόπιση. Τα IEC είναι αξιοσημείωτα για την παρουσία αρκετών υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PRRs), όπως Toll like receptors (TLRs) βοηθώντας έτσι στην κάθαρση των παθογόνων. Επιπλέον, τα IECs εκφράζουν μόρια μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC) I και II και μη κλασικά μόρια MHC, επιτρέποντάς τα να επεξεργάζονται και να παρουσιάζουν αντιγόνα στα ανοσοκύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο, υπάρχει άμεση επικοινωνία μεταξύ των αντιγόνων εντός του αυλού και των κυττάρων της βασικής μεμβράνης.^[56,57]

ii. **Goblet cells (βλενοπαραγωγά κύτταρα).** Αυτά μπορούν να βρεθούν ήδη από την 9^η – 10^η εβδομάδα της κύησης, για να φθάσουν στα επίπεδα των ενηλίκων κατά την 27^η εβδομάδα. Είναι ιδιαίτερα σημαντικά λόγω του ρόλου τους στην έκκριση γλυκοπρωτεϊνών βλεννίνης, με σημαντικότερη τη Muc2, και τελικά στην παραγωγή στρώματος βλέννης του εντέρου. Επιπλέον, είναι ικανά να διανέμουν αντιγόνα αυλού σε ένα υποσύνολο υποκείμενων δενδριτικών κυττάρων (DCs), τα οποία έχουν ανοσογονικές ιδιότητες, βοηθώντας με τον τρόπο αυτό στη διατήρηση των κοινών βακτηριδίων και της εντερικής ομοιόστασης. Βρέφη με NEC έχουν λιγότερα βλενοπαραγωγά κύτταρα που περιέχουν βλεννίνη.^[56,57]

iii. **Κύτταρα Paneth.** Είναι εξειδικευμένα εντεροκύτταρα που βρίσκονται στη βάση των κρυπτών του λεπτού εντέρου. Στο ανθρώπινο έμβρυο, τα κύτταρα Paneth εμφανίζονται για πρώτη φορά στο πρώτο τρίμηνο, ωριμάζουν κατά την 22-24^η εβδομάδα και αυξάνονται σε αριθμό ως το τέλος της κύησης. Συντελούν στη βιοχημική άμυνα του εντερικού επιθηλιακού φραγμού με την έκκριση λυσοζύμης, φωσφολιπάσης A2, αγγειογενίνη-4 και μικρών αντιμικροβιακών πεπτιδίων, τα οποία μπορούν να ρυθμίσουν τη σύνθεση και τη διανομή βακτηριακών πληθυσμών. Οι δύο κύριες οικογένειες των αντιμικροβιακών πεπτιδίων που προέρχονται από τα εντερικά κύτταρα είναι οι defensins (α και β) και οι cathelicidins. Τα κύτταρα Paneth εκκρίνουν πρωταρχικά α-defensins, και τα IECs εκκρίνουν κυρίως β-defensins, σε απόκριση μικροβιακών και προφλεγμονωδών ερεθισμάτων, αντίστοιχα. Αυτά τα αντιμικροβιακά πεπτιδία είναι φυσικά αντιβιοτικά με μικροβιοκτόνο δράση έναντι ευρέος φάσματος μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων, ιών, μυκήτων, πρωτόζωων και σπειροχαιτών. Τα αντιμικροβιακά πεπτιδία των κυττάρων Paneth πιθανώς παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή και στον περιορισμό της ανάπτυξης παθογόνων και κοινών βακτηριδίων, καθώς και στην υπεράσπιση του ξενιστή αυξάνοντας τις αντιφλεγμονώδεις και εκκριτικές αντιδράσεις του εντερικού επιθηλίου. Μελέτες in vitro έχουν δείξει ότι μπορούν να

ξεκινήσουν έναν προφλεγμονώδη καταρράκτη με έκκριση κυτοκινών, ο οποίος τελικά θα στρατολογήσει κύτταρα ανοσίας. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιούν την έκκριση ιόντων χλωρίου από τα εντερικά επιθήλια, γεγονός που πιθανώς θα βοηθούσε στον καθαρισμό ανεπιθύμητων τοξινών και παθογόνων από τις εντερικές κρύπτες. Σύμφωνα με έρευνες σημειώθηκε μείωση των συνολικών κυττάρων Paneth σε πρόωρα βρέφη με NEC σε σύγκριση με τα πρόωρα βρέφη με SIP.^[54,58]

iv. **Ανοσοκύτταρα.** Τα ανοσοκύτταρα που συνθέτουν την έμφυτη και προσαρμοστική ανοσία του εντέρου υπάρχουν στο επιθήλιο και στη βασική μεμβράνη. Το επιθήλιο φιλοξενεί τα ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα (IELs) και τις κυτταροπλασματικές επεκτάσεις των δενδριτικών κυττάρων που αλληλεπιδρούν μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων. Αρκετοί κυτταρικοί πληθυσμοί βρίσκονται στη βασική μεμβράνη, συμπεριλαμβανομένων των δενδριτικών κυττάρων (DCs), μακροφάγων, ουδετερόφιλων, T και B κυττάρων και ρυθμιστικών T κυττάρων (Tregs).^[56]

v. **T κύτταρα.** Τα εντερικά CD4 + T κύτταρα είναι βασικοί μεσολαβητές της ανοσοποιητικής ομοιοστάσης και της φλεγμονής. Πολλαπλά υποσύνολα CD4 + T κυττάρων έχουν περιγραφεί στο έντερο, το οποίο αντιπροσωπεύει μια σημαντική θέση για τη δημιουργία και ρύθμιση κυττάρων που εμπλέκονται σε ανοσοαποκρίσεις τόσο εντός όσο και εκτός της γαστρεντερικής οδού. Ανατομικά, τα CD4 + T κύτταρα κατανέμονται σε θέσεις του λεπτού και παχέως εντέρου που περιλαμβάνουν τους μεσεντέριους λεμφοαδένες και τον λεμφοειδή ιστό που σχετίζεται με το έντερο (GALT), συμπεριλαμβανομένων των πλακών του Peyer, των μικρότερων απομονωμένων λεμφοειδών θυλακίων (ILFs), καθώς και τη σκωληκοειδή απόφυση.^[59]

vi. **Εντεροενδοκρινικά κύτταρα.** Τα εντεροενδοκρινικά κύτταρα είναι διάσπαρτα σε όλο το λεπτό έντερο και αποτελούν περίπου το 1% του πληθυσμού των επιθηλιακών κυττάρων. Όπως και τα κύτταρα Paneth, εξειδικεύονται στην έκκριση ουσιών. Ανιχνεύουν τα περιεχόμενα του αυλού, ιδιαίτερα τα θρεπτικά συστατικά, και εκκρίνουν πολλούς ρυθμιστικούς παράγοντες όπως γαστρικό ανασταλτικό πεπτίδιο, πεπτίδιο τύπου γλυκαγόνης (GLP) και αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP) που ρυθμίζουν την πέψη, την εντερική κινητικότητα και την πρόσληψη τροφής. Αν και τα εντεροενδοκρινικά κύτταρα είναι διάσπαρτα σε όλο το έντερο, μαζί αυτά αποτελούν ένα από τα μεγαλύτερα ενδοκρινικά συστήματα στο σώμα.^[60]

2.2.2. Φυσικοί μηχανισμοί άμυνας.

i. **Γαστρική οξύτητα.** Το γαστρικό οξύ προστατεύει τη γαστρεντερική οδό μειώνοντας τον αριθμό των βιώσιμων παθογόνων που μπορούν να περάσουν στο έντερο. Τα εντεροενδοκρινικά κύτταρα και το αυτόνομο νευρικό σύστημα συντονίζουν την έκκριση υδροχλωρικού οξέος από τα τοιχωματικά κύτταρα και δημιουργείται όξινο και βακτηριοκτόνο γαστρικό περιβάλλον. Η έκκριση

γαστρικού οξέος φαίνεται να είναι παρούσα κατά τη διάρκεια της 24^{ης} εβδομάδας της κύησης. Η σημασία αυτού του όξινου γαστρικού περιβάλλοντος για την προστασία του ξενιστή αποδεικνύεται από πολλαπλές μελέτες παρατήρησης που συνδέουν τη χορήγηση H₂RA τόσο σε NEC όσο και σε σηψαιμία.^[40]

ii. **Στρώμα βλέννης.** Το στρώμα βλέννης προστατεύει για τη λίπανση και ελαχιστοποίηση της επαφής μεταξύ του επιθηλίου και των κοινών βακτηριδίων. Οι κύριες πρωτεΐνες της βλέννης στο έντερο είναι γλυκοζυλιωμένες πρωτεΐνες που ονομάζονται βλεννίνες (Mucins), που εκκρίνονται από τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα. Αυτά, παράγουν επίσης εκκριτική ανοσοσφαιρίνη A (sIgA), που συμβάλλουν στη λειτουργία της βλέννης. Η Muc2 είναι η κυρίαρχη βλεννίνη τόσο στο λεπτό όσο και στο παχύ έντερο. Ένα απλό στρώμα βλέννης στο λεπτό έντερο λειτουργεί με αντιβακτηριακές πρωτεΐνες για να περιορίσει την ικανότητα των βακτηρίων να φθάσουν στο επιθήλιο. Η βλέννη σχηματίζεται σε δύο ξεχωριστά στρώματα. Το εξωτερικό και παχύτερο στρώμα εμποδίζει τα εντερικά βακτήρια να φθάσουν στο επιθηλιακό στρώμα, ενώ το εσωτερικό στρώμα είναι ζωτικής σημασίας για την κυτταρική σηματοδότηση. Επιπλέον, μετακινείται κατά μήκος του λεπτού εντέρου με περισταλτικά κύματα, καθιστώντας ακόμα πιο δύσκολη τη βακτηριακή προσέγγιση του επιθηλίου. Έτσι αποτρέπεται η αλληλεπίδραση μεταξύ των παθογόνων βακτηριδίων και του επιθηλίου, παρέχοντας ταυτόχρονα υποστήριξη για συζευγμένα βακτήρια, αντιμικροβιακά πεπτιδία και εκκριτική ανοσοσφαιρίνη A (sIgA). Αξιοσημείωτα, η Muc2 του ειλεού είναι μειωμένη σε NEC.^[56,57,61]

2.2.3. Μικροβίωμα.

Ο όρος μικροβίωμα, αναφέρεται στο άθροισμα όλων των μικροβιακών κοινοτήτων που ζουν μέσα ή πάνω στο ανθρώπινο σώμα με το ανθρώπινο έντερο, κυρίως το παχύ να φιλοξενεί τον μεγαλύτερο αριθμό μικροβίων. Το ανθρώπινο έντερο περιέχει 10¹⁴ βακτήρια που αντιπροσωπεύουν 10 φορές το συνολικό αριθμό ανθρώπινων κυττάρων. Διάφοροι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του τρόπου τοκετού, παίζουν σημαντικό ρόλο στον αρχικό αποικισμό του εμβρυϊκού εντέρου. Τα βρέφη που γεννιούνται κολπικά, τυπικά αποικίζονται με τη μητρική κολπική χλωρίδα, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Lactobacillus* και *Prevotella*, ενώ τα βρέφη που γεννιούνται με καισαρική τομή αποικίζονται από τη χλωρίδα του δέρματος, συμπεριλαμβανομένων των *Staphylococcus* και *Corynebacterium*. Μετά τη γέννηση, ο εντερικός βακτηριακός πληθυσμός του βρέφους διευρύνεται γρήγορα. Τα πρώτα βακτήρια που αποικίζουν τα φυσιολογικά βρέφη (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *E coli*, *Lactobacillus* και *Enterobacter*), καταναλώνουν οξυγόνο, δημιουργώντας έτσι ένα περιβάλλον χαμηλού οξυγόνου που επιλέγει την ανάπτυξη αναερόβιων βακτηριακών ειδών. Έτσι, η αλλαγή της χλωρίδας από αερόβια βακτήρια σε προαιρετικά αναερόβια βακτηρίδια και τελικά αυστηρά αναερόβια μεταξύ της 3^{ης} και 7^{ης} ημέρας ζωής. Αυτά τα αναερόβια

βακτήρια αποτελούνται κυρίως από είδη *Clostridia*, *Bifidobacterium* και *Firmicutes*. Αρκετές αναφορές υπογράμμισαν ότι η ανάπτυξη της πρώιμης ζωής του μικροβιώματος του εντέρου του βρέφους παίζει σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, στην προστασία από παθογόνους παράγοντες και στην παροχή θρεπτικών συστατικών.^[62,63] Σε παγκόσμιο επίπεδο, 5%-13% όλων των νεογνών γεννιέται πρόωρα κυρίως λόγω της φλεγμονής των μητρικών/εμβρυϊκών υμένων. Τα πρόωρα εκτίθενται σε πολλές φυσιολογικές και περιβαλλοντικές εκθέσεις που μπορούν να επηρεάσουν όλες την κανονική ανάπτυξη του εντερικού μικροβιώματος. Τροφοδοτούνται εντερικά προγενέστερα, έχουν ανώριμο ανοσοποιητικό σύστημα, συνήθως εκτίθενται σε αντιβιοτικά, έχουν εγκατεστημένους στοματογαστρικούς ή ρινογαστρικούς σωλήνες και σιτίζονται σε νοσοκομειακό περιβάλλον που φιλοξενεί πολλά άτυπα βακτήρια σε σύγκριση με τη φυσιολογική εντερική χλωρίδα. Αυτά, σε συνδυασμό με ένα ανώριμο αναπτυξιακό στάδιο, προάγουν την ανάπτυξη μικροβιώματος που χαρακτηρίζεται από μειωμένη συνολική αρχική ποικιλομορφία σε σύγκριση με τα τελειόμηνα, με αυξημένη σύνθεση δυνητικά παθογόνων βακτηρίων όπως *E coli* και είδη *Staphylococcus* και *Klebsiella*, αυξημένη αναλογία προαιρετικών αναερόβιων (*Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, *Enterococcaceae* και *Weissella*), μειωμένη αναλογία αυστηρών αναερόβιων όπως *Bifidobacterium* και *Bacteroides*. και καθυστερημένο αποικισμό φυσιολογικών κοινών ειδών, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Bifidobacterium*.^[63] Πράγματι, μια προοπτική μελέτη 122 νεογνών πολύ χαμηλού βάρους (BW <1500 g) ταυτοποίησε βακτήρια σε δείγματα κοπράνων χρησιμοποιώντας εκκινητές ειδικούς για το βακτηριακό 16S rRNA. Ανεδείχθη υπέρμετρη ανάπτυξη δυνητικά παθογόνων gram-αρνητικών οργανισμών όπως *Escherichia coli*, *Enterobacter* και *Klebsiella* στα κόπρανα των 28 νεογνών που ανέπτυξαν NEC σταδίου 2 ή 3 με βάση ακτινολογικά κριτήρια.^[64]

2.2.4. Δυσβίωση.

Οι διαφορές στον μικροβιακό αποικισμό μεταξύ πρόωρων και νεογνών υποδηλώνουν τον πιθανό ρόλο της στην παθογένεση της NEC. Η έναρξη της NEC συνήθως συμβαίνει στη 2^η -6^η εβδομάδα ζωής με τον υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης NEC σε μια διορθωμένη ηλικία 29-33 εβδομάδων, μόνο μετά τον μικροβιακό αποικισμό του εντέρου, υπογραμμίζοντας το ρόλο του μικροβιώματος στην παθογένεια της νόσου. Μέχρι σήμερα, δεν έχει εντοπιστεί ειδικό μικροβιακό παθογόνο. Εντούτοις, ο εντερικός ιστός με ενεργή NEC, κατέδειξε αυξημένο μικροβιακό φορτίο και αφθονία αυστηρών αναερόβιων με μείωση της ποικιλομορφίας. Επιπλέον, μέχρι πρόσφατα, δεν ήταν σαφές αν το μη φυσιολογικό μικροβίωμα αποτελεί την αιτία ή το αποτέλεσμα της NEC.^[56] Σύμφωνα με μεταανάλυση 14 μελετών, που ουσιαστικά αποτελεί την πρώτη έρευνα αυτού του είδους, τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι υπάρχει εντερική δυσβίωση με αύξηση των μικροβίων *Proteobacteria phylum* και μείωση στα *Firmicutes* και *Bacteroidetes* που προηγείται της NEC σε

πρόωρα. Οκτώ από τις 14 μελέτες αναφέρουν αύξηση της σχετικής αφθονίας των *Proteobacteria* (τάξη *Gammaproteobacteria* ή οικογένεια *Enterobacteriaceae*) στα κόπρανα των βρεφών που ανέπτυξαν NEC. Διάφορες μελέτες ανέφεραν αυξημένα *Gammaproteobacteria* και μείωση σε άλλα βακτηριακά είδη, αυξημένα *Enterococcus spp.* και αλληλουχίες τύπου *Citrobacter*, αυξημένα *Proteobacteria* ή μειωμένα *Firmicutes* σε κόπρανα πριν από τη διάγνωση του NEC. Αυξημένα *Proteobacteria* δύο εβδομάδες πριν και *Actinobacteria* μια εβδομάδα πριν από τη διάγνωση NEC καθώς και χαμηλότερες μετρήσεις των *Bifidobacteria* και *Bacteroidetes* έχουν επίσης παρατηρηθεί. Επιπλέον, η χρήση αντιβιοτικών συσχετίζεται με αυξημένη αφθονία *Proteobacteria*, η οποία σχετίζεται επίσης με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης NEC. Η σχέση μεταξύ αυτών και της NEC που παρατηρείται σε αυτή την ανασκόπηση υποστηρίζει μια ισχυρή συσχέτιση, παρόλα αυτά, οι μελέτες που αναλύθηκαν εμφανίζουν ετερογένεια τόσο στα κλινικά, όσο και στα μεθοδολογικά χαρακτηριστικά.^[65] Στο ενήλικο ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα κυριαρχούν τα *Firmicutes phylum* (Class *Clostridium*) και *Bacteroidetes* (Class *Bacteroidia*), με τα *Proteobacteria* να αποτελούν μόνο το 4,5% των εντερικών μικροβίων, ενώ στα νεογνά, καταλαμβάνουν το 16% των συνολικών μικροοργανισμών που υπάρχουν. Σημειώνεται ότι υπάρχει αύξηση της αναλογίας *Proteobacteria* στο έντερο εγκύων κατά το τρίτο τρίμηνο, γεγονός που υποδηλώνει την αυξημένη μεταφορά *Proteobacteria* από τη μητέρα. Μετά τη γέννηση αυτή η ισορροπία μεταξύ των βακτηριακών ειδών διατηρείται μέσω του ανταγωνισμού για πηγές άνθρακα, του ανταγωνισμού για ιχνοστοιχεία όπως ο σίδηρος και της διαθεσιμότητας λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου με αποτέλεσμα είτε την αύξηση, είτε τη μείωση αυτών των στελεχών. Ο τύπος της σίτισης είναι επίσης σημαντικός επειδή τα βρέφη που σιτίζονται με την ειδική formula έχουν υψηλότερη συχνότητα *Proteobacteria* από τα θηλάζοντα. Θεωρείται ότι τα *Proteobacteria* είναι ικανά να ευδοκιμήσουν επειδή η formula σίτισης δεν έχει τους ολιγοσακχαρίτες και την εκκριτική IgA που υπάρχουν στο μητρικό γάλα.^[63]

2.2.5. Χορήγηση αντιβιοτικών

Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες είναι φάρμακα με ευρεία χρήση στις μονάδες νεογνών (NICU's). Στις ΗΠΑ, η πλειοψηφία των πολύ πρόωρων νεογνών λαμβάνουν εμπειρική αγωγή κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής, παρότι η επίπτωση της πρώιμης σήψης είναι χαμηλή. Καταστάσεις όπως ενδομήτρια λοίμωξη, χοριοαμνιονίτιδα, πρώιμη ρήξη υμένων, συχνά οδηγούν στην απόφαση χορήγησης αντιβιοτικών. Ακόμα κι αν η χρήση είναι συνετή, αυτή δεν γίνεται βάσει θετικών καλλιεργειών παρά στην «πεποίθηση» του θεράποντα περί του κινδύνου λοίμωξης με ότι αυτό συνεπάγεται όσον αφορά στην ανάπτυξη αντοχής των μικροβίων αλλά και των μυκητιασικών λοιμώξεων.^[66]

Η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών στον πληθυσμό της μονάδας εντατικής θεραπείας (NICU) νεογνών μπορεί να συμβάλει σε παρεκκλίνοντα αποικισμό του εντέρου, να μειώσει τη βιοποικιλότητα, να καθυστερήσει τον αποικισμό με φυσιολογική εντερική χλωρίδα και να προωθήσει τον πολλαπλασιασμό των παθογόνων και ανθεκτικών στα αντιβιοτικά οργανισμών. Η αύξηση των δυνητικά παθογόνων οργανισμών και η μείωση της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου σε συνδυασμό με την εξασθένηση στον εντερικό επιθηλιακό φραγμό μπορεί να προδιαθέτει σε NEC.^[67]

Σε μελέτη 5.693 εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης νεογνών από 19 κέντρα, τα 4039 (71%) επιβίωσαν >5 ημερών, και έλαβαν εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή, και είχαν αρνητικές καλλιέργειες τουλάχιστο τις 3 πρώτες ημέρες της ζωής. Αυτά που έλαβαν παρατεταμένη αγωγή ήταν λιγότερο ώριμα, είχαν μικρότερο Apgar score και ανήκαν συχνότερα στη μαύρη φυλή. Σε πολυπαραγοντικές αναλύσεις προσαρμοσμένες για αυτούς τους παράγοντες και του κέντρου προέλευσης, η παρατεταμένη θεραπεία συσχετίστηκε με αυξημένες πιθανότητες νεκρωτικής εντεροκολίτιδας ή θανάτου.^[67,68]

Τελευταία αρχίζουν να μπαίνουν στο «στόχαστρο» και οι συνδυασμοί των αντιμικροβιακών παραγόντων που χρησιμοποιούνται ως εμπειρική αγωγή. Η αμπικιλίνη και η γενταμικίνη είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα αρχικά αντιβιοτικά. Σε μελέτη που συμμετείχαν 714 νεογνά < 1500g, αναδείχθηκε 10-πλάσια μείωση της NEC όταν τα συμμετέχοντα κέντρα άλλαξαν την αγωγή σε πιπερακιλλίνη-ταζομπακτάμη ως αντιβιοτικό εκλογής τους για την αρχική θεραπεία της πιθανής σηψαιμίας.^[69]

2.3. Το ανοσοποιητικό σύστημα του νεογνικού εντέρου.

Η αναγνώριση μικροβιακών αντιγόνων από το νεογέννητο - ξενιστή μπορεί να επιτευχθεί μέσω δύο αλληλοσυνδεδεμένων σκελών του ανοσοποιητικού συστήματος: το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο αποτελείται από κύτταρα και τους υποδοχείς τους ως ένα δίκτυο «πρώτης αποκρίσεως» που ανταποκρίνεται ταχέως και το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο απαιτεί προηγούμενη έκθεση σε αντιγονικά ερεθίσματα και την απελευθέρωση αντισωμάτων από λεμφοκύτταρα. Έχειδειχθεί πως το ανοσοποιητικό του νεογνού είναι ανώριμο και μπορεί να είναι παράγοντας πρόκλησης NEC.^[70]

Το προσαρμοστικό σκέλος του ανοσοποιητικού συστήματος αποκρίνεται σε πολύ εξειδικευμένα αντιγόνα, τα οποία πρέπει να υποβληθούν σε επεξεργασία και να παρουσιαστούν από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) τα οποία παρουσιάζουν αντιγόνα στα κύτταρα T και B, τα κυριότερα της προσαρμοστικής ανοσίας. Τέτοια παρουσίαση έχει ως αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση των T helper (Th) CD4+ σε διαφορετικά υποσύνολα, συμπεριλαμβανομένων των Th1, Th2, Th17 και Treg. Κάθε υποσύνολο χαρακτηρίζεται από την κυριαρχία ενός παράγοντα μεταγραφής και ειδικές

κυταροκίνες. Γενικά, τα υποσύνολα ανταγωνίζονται μεταξύ τους, π.χ. Οι κυταροκίνες Th1 αναστέλλουν την πολικότητα Th2.^[71]

2.3.1. Ο ρόλος του TLR-4

Οι PRRs (Pattern recognition receptors) παίζουν κεντρικό ρόλο στην έμφυτη ανοσία, καθώς αναγνωρίζουν μοριακά πρότυπα των παθογόνων που εισβάλλουν και ξεκινούν αλληλεπιδράσεις σηματοδότησης που οδηγούν σε φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Όπως εκφράζονται από τους περισσότερους τύπους κυττάρων, οι PRRs εκτελούν μια βασική λειτουργία στην επιτήρηση της πρώτης γραμμής. Δύο οικογένειες PRRs, Toll-like receptors (TLRs) και Nod-like receptors (NLRs), εμπλέκονται στην παθογένεια της NEC.^[71]

Η οικογένεια πρωτεϊνών Toll ανακαλύφθηκε αρχικά ως υποδοχέας σχετιζόμενος με την ανάπτυξη στη *Drosophila*. Στα θηλαστικά αυτοί οι υποδοχείς εκφράζονται από την κυτταρική μεμβράνη καθώς και από οργανίδια και παίζουν κεντρικό ρόλο στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα τόσο ως ενεργοποιητές των καταρακτών που οδηγούν σε άμεσες αποκρίσεις όσο και ως συνδέτες για την ενεργοποίηση του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος. Οι υποδοχείς που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη αναγνωρίζουν διατηρημένα μικροβιακά πρότυπα όπως λιποπολυσακχαρίδες (LPS) gram- βακτηρίων (TLR4), λιπoteichoϊκό οξύ gram+ βακτηρίων καθώς και βακτηριακές λιποπρωτεΐνες (TLR1/TLR2 and TLR2/TLR6) και flagellin (TLR5). Οι ενδοκυτταριοί αναγνωρίζουν βακτηριακά νουκλεϊνικά οξέα. Έως και σήμερα στον άνθρωπο έχουν ταυτοποιηθεί 10 TLR (TLR 1-10).^[72,73]

Ο TLR-4 είναι ένας από τους καλύτερα αναγνωρισμένους υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων, καθώς η ενεργοποίησή του προκαλεί ενεργοποίηση του NF-κB και απελευθέρωση κυταροκινών. Ένα ερώτημα που έπρεπε να απαντηθεί ήταν το κατά πόσο η έκφραση του TLR-4 είναι υψηλότερη σε πρόωρο νεογνό συγκριτικά με ένα τελειόμηνο και επιπλέον αν η υψηλή έκφραση μπορεί να εμπλακεί στην παθογένεια της NEC. Τα τρέχοντα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η βασική έκφραση TLR σε τελειόμηνα νεογνά ισοδυναμεί με πρότυπα έκφρασης ενηλίκων, ενώ η έκφραση σε πρόωρα βρέφη φαίνεται να αυξάνεται, ανάλογα με την ηλικία κύησης. Με τη χρήση ποσοτικής Real Time – PCR, δείχθηκε ότι η έκφραση του TLR-4 είναι υψηλότερη σε καταστάσεις όπως η υποξία και η παρουσία εξωγενών βακτηρίων ή LPS. Επιπλέον, ο TLR-4 όχι μόνο εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα, αλλά είναι και λειτουργικά δραστήσιος, καθώς η χορήγηση LPS αγωνιστή του TLR-4 απευθείας στον εντερικό σωλήνα αναπτυσσόμενου ποντικού, έδειξε σημαντική αύξηση στην επαγωγή των εξαρτώμενων από TLR-4 κυταροκινών, χημειοκινών, ιντερφερονών και γονιδίων ανοσοαπόκρισης που συμβαδίζουν με την έκφραση του TLR-4. Όταν το έντερο ενός πρόωρου αρχίζει να αποικίζεται, ευνοείται η υπερβολική σηματοδότηση του TLR-4, η απόπτωση εντεροκυττάρων και η αναστολή της

αποκατάστασης του βλεννογόνου μέσω μειωμένου πολλαπλασιασμού εντεροκυττάρων και μετανάστευσης. Έτσι εννοείται η βακτηριακή μετάθεση (translocation) και η ανάπτυξη σήψης και NEC.^[74-76]

Η σηματοδότηση του TLR-4 μπορεί να περιοριστεί μέσω της ενεργοποίησης TLR-9 μέσω διαφόρων μηχανισμών με αποτέλεσμα τον περιορισμό της επαγόμενης από TLR-4 απόπτωσης εντεροκυττάρων και της βακτηριακής μετατόπισης. Το ενδιαφέρον έγκειται στο γεγονός της δυνατότητας χρήσης του TLR-9 ως θεραπευτικού παράγοντα για την αντιμετώπιση της NEC.^[77]

2.4. Μεσολαβητές φλεγμονής.

i. **IL-1.** Η IL-1 είναι προ-φλεγμονώδης κυταροκίνη και επάγεται σε πολυάριθμους κυτταρικούς τύπους από μια ευρεία ποικιλία ενεργοποιητών. Ενεργώντας σε συγκεντρώσεις picogram, η IL-1 προκαλεί πληθώρα φλεγμονωδών επιδράσεων, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής άλλων προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών. Οι δύο ισομορφές, IL-1α και IL-1β, δεσμεύονται στον ίδιο υποδοχέα κυτταρικής επιφάνειας. Η ενεργοποίηση και η απελευθέρωση της IL-1β ελέγχονται στενά από μετα-μεταφραστικούς μηχανισμούς. Η δέσμευση της IL-1 στον υποδοχέα της προκαλεί μια αλληλουχία σηματοδότησης που οδηγεί στην ενεργοποίηση προ-φλεγμονωδών παραγόντων μεταγραφής όπως NF-κB, οι οποίοι με τη σειρά τους επάγουν προ-φλεγμονώδεις κυταροκίνες όπως IL-6, TNF και την ίδια την IL-1.^[78] Σε μία από τις λίγες μελέτες στον άνθρωπο σχετικά με την IL-1β σε NEC, το mRNA της IL1β του ειλεού σε χειρουργηθέντα νεογνά με NEC ήταν περισσότερο από 10 φορές υψηλότερο σε σύγκριση με τους μη-NEC χειρουργικούς ασθενείς.^[79]

ii. **IL-1Ra.** Ο IL-1Ra είναι μια αντιφλεγμονώδης κυταροκίνη που λειτουργεί με ανταγωνιστική αναστολή της δέσμευσης των δύο προ-φλεγμονωδών IL-1α και IL-1β στον υποδοχέα τους.^[78] Καθώς η IL-1Ra είναι ένας από τους ενδογενείς «αντιρρυθμιστικούς» μηχανισμούς που επάγονται από τη φλεγμονή, η αφθονία της συσχετίζεται συχνά με τη σοβαρότητα της νόσου. Ωστόσο, οι σημαντικές αυξήσεις της IL-1Ra που παρατηρούνται στη NEC σαφώς δεν περιορίζουν τη καταγιστική φλεγμονή που υποκινεί τη NEC, πιθανώς οι συγκεντρώσεις IL-1Ra είναι ανεπαρκώς αυξημένες στο έντερο όπου συμβαίνει η φλεγμονώδης βλάβη. Είναι ενδιαφέρον ότι η IL-1Ra μειώθηκε 2-3 εβδομάδες πριν από την εμφάνιση NEC σε στοματικά επιχρίσματα από βρέφη σε κίνδυνο υποδηλώνοντας μια αιτιώδη σύνδεση μεταξύ της έλλειψης IL-1Ra και NEC.^[80,81]

iii. **TNF (Tumor Necrosis Factor).** Ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF), είναι ένας ισχυρός μεσολαβητής της φλεγμονής, επιτελώντας πολλαπλές φυσιολογικές λειτουργίες στην ομοιόσταση και την αντιμικροβιακή ανοσία. Ο TNF ανακαλύφθηκε το 1975 ως ένα επαγόμενο από ενδοτοξίνη μόριο που προκάλεσε νέκρωση όγκων in vitro και δρα συνεργικά με τις ιντερφερόνες. Η παραγωγή του mRNA του TNF ρυθμίζεται μεταγραφικά και προκαλείται από πολλούς παράγοντες

μεταξύ των οποίων και από τον NF-κB.^[82] Η απελευθέρωση του TNF-α ενεργοποιείται από έναν αριθμό φλεγμονωδών ερεθισμάτων που περιλαμβάνουν ενδοτοξίνη (LPS), εντεροτοξίνη gram+ βακτηρίων, ιούς, μύκητες και παράσιτα. Σημαντικές κυτταρικές πηγές TNF-α στο έντερο είναι τα μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα, ουδετερόφιλα, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα λείων μυών, εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Ο TNF-α ασκεί τα αποτελέσματά του με δέσμευση σε υποδοχείς TNF με αποτέλεσμα την εκκίνηση τοπικών φλεγμονωδών αποκρίσεων. Απελευθερώνεται νωρίς μετά την ιστική βλάβη και οδηγεί σε έναν καταρράκτη απελευθέρωσης κυτοκίνης IL-1β, IL-6 και IL-8. Αναστέλλει επίσης την απελευθέρωση των γλυκοκορτικοειδών και των ρυθμιστικών κυταροκινών TGF-β και IL-10. Μερικές δράσεις που προκαλούνται από τον TNF-α περιλαμβάνουν επαγωγή απόπτωσης, ενεργοποίηση ουδετερόφιλων, πρόσληψη ουδετερόφιλων, έκφραση μορίων προσκόλλησης ενδοθηλίου, πυρετό και παραγωγή και απελευθέρωση πρωτεϊνών οξείας φάσης, προφλεγμονωδών κυταροκινών, NO, PGE2 (Προσταγλανδίνη E2), PAF (Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων) και TXA2 (Θρομβοξάνιο A2). Αυξημένα επίπεδα TNF-α έχουν ανιχνευθεί σε τμήματα εντέρου και στο πλάσμα νεογνών με NEC. Σε σύγκριση με άλλα σύνδρομα φλεγμονώδους εντέρου, τα επίπεδα TNF-α είναι χαμηλότερα σε NEC^[83-85]

iv. **IL-6.** Η IL-6 είναι ένας σημαντικός ανοσοδιαμεσολαβητής οξείας φάσης. Η απελευθέρωση της IL-6 ενεργοποιείται από μια ποικιλία ερεθισμάτων που συμπεριλαμβάνουν μικρόβια, μικροβιακά προϊόντα, TNF-α και IL-1β. Σημαντικές κυτταρικές πηγές της IL-6 στο έντερο είναι μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα και εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Μερικές δράσεις που προκαλούνται από την IL-6 περιλαμβάνουν παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης (π.χ. CRP), ανάπτυξη B κυττάρων, παραγωγή αντισώματος, πολλαπλασιασμό T κυττάρων και αυξημένη δραστηριότητα αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων όπως GM-CSF (Διεγερτικός παράγοντας κοκκιοκυττάρων – μακροφάγων). Τόσο η CRP όσο και η IL-6 χρησιμοποιούνται κλινικά ως βιοδείκτες οξείας φλεγμονής^[83,86] Υψηλά επίπεδα IL-6 ομφάλιου λώρου έχουν συσχετιστεί με NEC και SIRS (Συστηματική φλεγμονώδης απόκριση). Αυξημένη IL-6 έχει αναφερθεί στο πλάσμα και στα κόπρανα νεογνών με NEC.^[87,88] Πιθανώς η περίσσεια IL-6 παίζει παθογόνο ρόλο στην NEC. Νεογνά < 32 εβδομάδων κύησης Καυκάσιας φυλής με πολυμορφισμό της IL-6 που σχετίζεται με αυξημένη IL-6 πλάσματος, ήταν έξι φορές πιο πιθανό να αναπτύξουν NEC.^[89]

v. **IL-8.** Η IL-8 είναι μια χημειοκίνη που διεγείρει τη μετανάστευση ουδετερόφιλων και μπορεί να τα ενεργοποιήσει άμεσα διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις IL-8 στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένες σε σοβαρές περιπτώσεις NEC από την εμφάνισή της εντός του πρώτου 24ώρου. Σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα, η έκκριση της IL-8 προκλήθηκε είτε από τον TNF-α είτε από την IL-1β. Και οι δύο μεσολαβητές είναι γνωστό ότι είναι αυξημένοι στα βρέφη με NEC και είναι ισχυρά ενδογενή φλεγμονώδη διεγερτικά μέσω της ενεργοποίησης του πυρηνικού παράγοντα κB (NF-κB) οδηγώντας στην αυξημένη παραγωγή πολλών

κυταροκινών, όπως η IL-8. Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι τα εμβρυϊκά IECs έχουν αυξημένη παραγωγή IL-8 διεγερμένη από TNF- α - και IL-1 β σε σύγκριση με εντεροκύτταρα ενηλίκων.^[90]

vi. **IL-10.** Η IL-10 είναι η πιο σημαντική ρυθμιστική κυταροκίνη στο έντερο και συντίθεται κυρίως από Th2 κύτταρα, μονοκύτταρα και B κύτταρα. Η παραγωγή αντιφλεγμονωδών μεσολαβητών όπως η IL-10 είναι ελαττωμένη στο νεογέννητο σε σύγκριση με τον ενήλικα, ενώ τα πρόωρα βρέφη συνθέτουν μικρότερα ποσά από ότι τα τελειόμηνα. Αυτό, πιθανώς επιτρέπει την επίμονη επαγωγή της φλεγμονώδους απόκρισης και επομένως την αυξημένη ευαισθησία στο πρόωρο νεογνό σε μακροχρόνια ιστική βλάβη μετά από οξείες φλεγμονώδεις καταστάσεις. Η IL-10 εμπλέκεται ως ένας αναστολέας της προφλεγμονώδους παραγωγής κυταροκίνης και σε αρκετές βοηθητικές κυτταρικές λειτουργίες των μακροφάγων, κυττάρων T και φυσικών κυττάρων φονέων (NK). Έχει δειχθεί ότι ποντικοί με έλλειψη IL-10 είχαν προδιάθεση να αναπτύξουν φλεγμονώδη κολίτιδα, υποδηλώνοντας ότι η IL-10 λειτουργεί ως αντισταθμιστικός παράγοντας. Ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις IL-10 σε ποντίκια κατάφεραν να μειώσουν τοπικές και συστηματικές φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η IL-10 καταστέλλει την έκφραση iNOS, mRNA και NO σε λεπτό έντερο, ήπαρ και ορό. Ο Edelson παρατήρησε σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις της IL-10 σε σοβαρή NEC. Ίσως τα υψηλά επίπεδα IL-10 σε σοβαρή NEC είναι η απόκριση του οργανισμού για την επιβράδυνση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η IL-10 είναι μία ισχυρή ρυθμιστική κυταροκίνη και ότι οι πιθανότητες χρήσης της ως θεραπεία της NEC κατά την έναρξή της, είναι υψηλές.^[91] Η αντιφλεγμονώδης κυταροκίνη, IL-10, η οποία είναι άφθονη στο ανθρώπινο μητρικό γάλα, θεωρήθηκε ως ένας από τους δυνητικούς προστατευτικούς παράγοντες που έναντι της NEC. Είναι ενδιαφέρον ότι η στοχευμένη εξάλειψη του γονιδίου IL-10 σε ποντίκια οδηγεί σε εντεροκολίτιδα μετά τον απογαλακτισμό, παρόμοια με την NEC. Επίσης, σε μοντέλα ποντικών με NEC, έχει αποδειχθεί ότι το μητρικό γάλα οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής IL-10.^[92]

vii. **NF- κ B (Nuclear Factor κ B).** Τριάντα χρόνια πριν, οι Sen και Baltimore, αναγνώρισαν μια πρωτεΐνη που δεσμεύεται σε μια συγκεκριμένη, διατηρούμενη αλληλουχία DNA στους πυρήνες των ενεργοποιημένων B λεμφοκυττάρων. Ονομάστηκε nuclear factor binding near the κ light-chain gene in B cells, ή NF- κ B^[93] και είναι ένας παράγοντας μεταγραφής που ρυθμίζει την έκφραση πολλών προφλεγμονωδών κυταροκινών, χημειοκινών και μορίων προσκόλλησης λευκοκυττάρων. Αποτελείται από πέντε υπομονάδες προς σχηματισμό ενεργών NF- κ B. Είναι παρόν στο κυτταρόπλασμα των περισσότερων κυττάρων και έχει πολλαπλές λειτουργίες στο έντερο, μερικές προστατευτικές, άλλες δυνητικά επιβλαβείς. Πολλές παρεμβάσεις που είναι γνωστό ότι μειώνουν την επίπτωση της NEC, όπως ο θηλασμός και η χρήση προβιοτικών, εξασθενούν την ενεργοποίηση του NF- κ B: Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις για τη συμμετοχή του στην NEC. Πρώτον, η σοβαρότητα της NEC συσχετίστηκε με αυξημένη δραστηριότητα NF- κ B στα επιθηλιακά κύτταρα νεογνών που γεννήθηκαν με καισαρική τομή, και δεύτερον, ειδική αναστολή NF- κ B σε αρουραίους με NEC

μειώνει σημαντικά την εμφάνιση και τη σοβαρότητα της νόσου. Επιπλέον, σε μια ανθρώπινη μελέτη, το 100% των βρεφών NEC ήταν φορείς της παραλλαγής NFKB1, η οποία οδηγεί σε πιο έντονες φλεγμονώδεις αποκρίσεις, σε σύγκριση με το 65% των μη-NEC νεογνών.^[71,94]

viii. **IFN-γ.** Η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) είναι ζωτικής σημασίας για την ανοσία κατά των ενδοκυτταρικών παθογόνων. Ωστόσο, η ανώμαλη έκφρασή της έχει συσχετιστεί με έναν αριθμό αυτοφλεγμονωδών και αυτοάνοσων ασθενειών. Αυτή η κυταροκίνη παράγεται κυρίως από κύτταρα φυσικούς φονείς (NK) ως μέρος της έμφυτης ανοσοαπόκρισης και από Th1 CD4 και CD8 κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα. Συντελεί στη διαφοροποίηση των κυττάρων Th1 και ασκεί προφλεγμονώδεις δράσεις προκαλώντας Th1 χημειοκίνες, ενεργοποιώντας μακροφάγα και διευκολύνοντας τη φαγοκυττάρωση. Τα συνδυασμένα αποτελέσματα της IFNγ είναι κρίσιμα για την κάθαρση των ενδοκυτταρικών παθογόνων. Αξιοσημείωτο είναι ότι η πρόωρη ζωή σχετίζεται με μειωμένη ικανότητα για την ανίχνευση των αποκρίσεων Th1 και την παραγωγή IFNγ.^[95,96] Σε μία μελέτη σε ανθρώπους διαπιστώθηκε μόλις υποσημαινόμενη αύξηση των επιπέδων IFN-γ (1,4X) σε πρόωρα νεογνά με χειρουργηθείσα NEC έναντι υγιών.^[97] Στον αντίποδα σε άλλη μελέτη σε νεογνά με NEC και σήψη διαπιστώθηκε μεγάλη αύξηση (4-10X) επιπέδων IFN-γ, έναντι των υγιών.^[98]

ix. **IL-12 και IL-18.** Το εντερικό περιβάλλον είναι ικανό να παράγει μια σειρά κυταροκινών σημαντικών στην ανάπτυξη και τον έλεγχο φλεγμονωδών αποκρίσεων. Μεταξύ αυτών, οι προφλεγμονώδεις IL-18, IL-12 και IFN-γ. Μεμονωμένα, οι IL-18 και IL-12 μπορούν να επάγουν μικρές ποσότητες IFN-γ από T φυσικούς φονείς (NK) και B κύτταρα. Μαζί, η IL-18 και η IL-12 μπορούν να δρουν συνεργικά για να επάγουν μεγαλύτερες ποσότητες IFN-γ καθώς επίσης μπορούν να επάγουν φλεγμονή εντέρου παρουσία IFN-γ σε ποντικούς. Τόσο η IL-18 όσο και η IL-12 παράγονται από μακροφάγα, ωστόσο, η IL-18 παράγεται επίσης και από τα IECs. Επιπλέον, η αύξηση της IL-18 και της IL-12 συσχετίζεται με την εξέλιξη της βλάβης των ιστών^[99] Η σύνθεση και απελευθέρωση της IL-12 είναι η πρόωμη απόκριση σε βακτηρίδια, βακτηριακά προϊόντα και ιούς. Η IL-12 ασκεί τα αποτελέσματά της με δέσμευση σε υποδοχείς IL-12 που υπάρχουν στα T κύτταρα και τα κύτταρα NK. Μερικές δράσεις που προκαλούνται από την IL-12 περιλαμβάνουν παραγωγή IFN-γ, πολλαπλασιασμό κυττάρων Th1 και NK, διαφοροποίηση κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων και κυττάρων Th1, ενεργοποίηση μακροφάγων.^[100] Η IL-12 είναι μια δυναμική κυταροκίνη στην ανάπτυξη της NEC, όπως έχει δειχθεί με θετική συσχέτιση μέσω ανοσοϊστοχημείας σε μονοκύτταρα στον εντερικό βλεννογόνο και στη βασική μεμβράνη σε ζωικά μοντέλα αρουραίου.^[99]

x. **TGF-β.** Η κυταροκίνη TGF-β παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση των ανοσοαποκρίσεων. Έχει πλειοτροπικά αποτελέσματα στην προσαρμοστική ανοσία, ειδικά στη ρύθμιση των αποκρίσεων CD4+ T κυττάρων. Πολλά κύτταρα μπορούν να παράγουν TGF-β, αλλά πάντοτε παράγονται ως ένα ανενεργό σύμπλεγμα το οποίο πρέπει να ενεργοποιηθεί για να ασκήσει λειτουργικές επιδράσεις. Ποντικοί χωρίς TGF-β1 ανέπτυξαν προοδευτική φλεγμονή σε πολλά όργανα

λίγο μετά τη γέννηση, υποδεικνύοντας τις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις του. Παρατηρήθηκε επίσης ότι ο TGF-β ρυθμίζει πολλές οδούς, όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων, των φαγοκυττάρων, των δενδριτικών κυττάρων και ρυθμίζει την από του στόματος ανοχή καθώς και τη διαφοροποίηση των φλεγμονωδών αποκρίσεων και αλλεργιών. Ο TGF-β ρυθμίζει τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων τα οποία διατηρούν την ακεραιότητα του εντερικού φραγμού και παράγουν IL-10. Το εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα σε πρόωρα νεογνά είναι ανώριμο, παράγοντας αξιοσημείωτα χαμηλές ποσότητες ενδογενούς TGF-β και σε συνδυασμό με αυξημένη έκθεση σε LPS και αυξημένη IL-1β, μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονώδη απόκριση. Αυτό υποδηλώνει ότι η αποκατάσταση των χαμηλών επιπέδων TGF-β είναι ζωτικής σημασίας για την παροχή επαρκούς προστασίας από φλεγμονή. Εντερική σίτιση με πρωτόγαλα, που περιέχει μεγάλες ποσότητες TGF-β2, ενεργοποιεί τους υποδοχείς του TGF και αυξάνει την ανάπτυξη των βλαστοκυττάρων σε νεογέννητους χοίρους. Σε πρόσφατη (2011) μελέτη έχει δειχθεί ότι η έκφραση του TGF-β2 και η βιοδραστικότητα του TGF-β ήταν χαμηλότερες σε NEC, σε επίπεδα ακόμη χαμηλότερα από το πρόωρο εμβρυϊκό έντερο, υποδηλώνοντας ότι η γενετική - επιγενετική μεταβλητότητα στην έκφραση του TGF-β2 μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο NEC ένα πρόωρου νεογνού σε σχέση με μάρτυρες. Σημειώνεται από τους συγγραφείς της μελέτης ότι τα χαμηλά επίπεδα TGF-β που παρατηρήθηκαν είναι μοναδικά για τη NEC και δεν οφείλονται στην κατανάλωση κατά τη φλεγμονή του βλεννογόνου. Οι συγκεντρώσεις του TGF-β1 ήταν επίσης χαμηλότερες σε NEC, ενώ ο TGF-β3 προσδιορίστηκε κοντά στο κατώτερο όριο ανίχνευσης.^[101-103]

xi. **PAF.** Ο PAF είναι ένας προ-φλεγμονώδης μεσολαβητής φωσφολιπιδίων που ενεργοποιεί φλεγμονώδη μονοπάτια. Η ενδοαυλική χορήγηση του PAF σε ενήλικους αρουραίους προκαλεί ισχαιμική νέκρωση τύπου NEC στο λεπτό έντερο. Η προκατεργασία με χαμηλή δόση LPS επιδεινώνει περαιτέρω αυτές τις βλάβες, υποδηλώνοντας μια συνεργική επίδραση μεταξύ της σηματοδότησης TLR4 και του PAF σε εντερική νόσο. Ενώ μια μέτρια αύξηση του κυκλοφορούντος PAF και του PAF των κοπράνων είναι φυσιολογική κατά την έναρξη της εντερικής σίτισης στα νεογέννητα βρέφη, αυτή η αύξηση είναι πιο έντονη στα βρέφη που τρέφονται με φόρμουλα. Ακόμη υψηλότερες συγκεντρώσεις PAF παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με NEC. Το ανθρώπινο νεογνό έχει μειωμένη ικανότητα να ελέγχει ουσιαστικές αυξήσεις στον PAF καθώς η δραστηριότητα του ενζύμου PAF-ακετυλυδρολάση (PAF-AH) που αποικοδομεί τον PAF παραμένει χαμηλή τις πρώτες εβδομάδες ζωής. Παρόλο που οι συγκεντρώσεις PAF-AH είναι παρόμοιες σε τελειόμηνα και πρόωρα βρέφη, κατά την έναρξη της NEC, η δραστηριότητα του μειώνεται κατά περισσότερο από 50% σε σύγκριση με τους μη-NEC μάρτυρες.^[72]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο.

3.1. Σίτιση πρόωρων νεογνών. Ανθρώπινο γάλα, προτυποποιημένα σκευάσματα (formula) ή παρεντερική διατροφή;

3.1.1. Αναπτυξιακή βιολογία.

Το υγιές έμβρυο αναπτύσσεται με ρυθμό 15-20 g/kg/day κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων τριμήνων της κύησης και περιορίζεται στα 10 g/kg/day κατά το τρίτο. Η σύνθεση του βάρους εξαρτάται από παράγοντες όπως η ηλικία κύησης και γίνεται εύκολα αντιληπτό σε περίπτωση πρόωρου τοκετού. Το συνολικό νερό του σώματος ως ποσοστό του σωματικού βάρους μειώνεται γρήγορα τελευταίο τρίμηνο. Περίπου το 80% του βάρους μεταξύ της 24^{ης} και 28^{ης} εβδομάδας της κύησης είναι νερό, μειούμενο σε περίπου 60% μεταξύ 36^{ης} και 40^{ης} εβδομάδας. Η ποσοστιαία αναλογία λίπους αυξάνεται επίσης από 8% στις 24-28 εβδομάδες σε σχεδόν 20% στα τελειόμηνα. Ο στόχος της διατροφής θα πρέπει να είναι η ελαχιστοποίηση της χρήσης παρεντερικής διατροφής, αλλά η διατήρηση επαρκούς διατροφής με ασφάλεια. Η παρεντερική διατροφή έχει επιβλαβείς παρενέργειες που περιλαμβάνουν ατροφία του εντέρου, σηψαιμία και αυξημένη ευαισθησία σε φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Ακόμη και η χορήγηση μικρών όγκων εντερικής σίτισης, ιδιαίτερα του πρωτογάλακτος, έχει πλεονεκτήματα για την ανάπτυξη της εντερικής κινητικότητας και του ευεργετικού μικροβιακού αποικισμού, τη διατήρηση των φραγμών του βλεννογόνου, τη μείωση της σηψαιμίας και τη βελτίωση της οστικής μάζας. Ελάχιστη εντερική διατροφή μετά τον τοκετό, παίζει σημαντικό ρόλο στη διέγερση ανάπτυξης του εντέρου. Το εμβρυϊκό έντερο είναι δομικά ώριμο στην 25^η εβδομάδα και είναι ικανό να αφομοιώσει και να απορροφήσει το γάλα σε κάποιο βαθμό. Ωστόσο, η κινητικότητα αναπτύσσεται πιο αργά κατά την 30^η εβδομάδα εξαιτίας της ανωριμότητας του εντερικού νευρικού συστήματος με αποτέλεσμα τον καθυστερημένο χρόνο διέλευσης του εντέρου, προκαλώντας βακτηριακή υπερανάπτυξη και κοιλιακή διάταση. Η κατάποση εμφανίζεται και εξελίσσεται από το δεύτερο τρίμηνο και υπάρχει συνεχής ροή αμνιακού υγρού περίπου 500 ml ημερησίως μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου. Η ανωριμότητα των αντανακλαστικών του συντονισμού κατάποσης με βήχα, έως την 32^η-34^η εβδομάδα, καθυστερεί την έναρξη της στοματικής σίτισης και τη μετάβαση σε πλήρη σίτιση. Ο οισοφαγικός τόνος είναι χαμηλός σε πρόωρα βρέφη <30 εβδομάδων κύησης. Συνοδεύοντας την ανάπτυξη της γαστρεντερικής οδού του εμβρύου, καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, υπάρχει επίσης προοδευτική ανάπτυξη πεπτικών ενζύμων. Αν και η γαστρική πεψίνη και τα ένζυμα της ψυκτροειδούς παρυφής, όπως η αμινοπεπτιδάση και η λακτάση αναπτύσσονται καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, οι συγκεντρώσεις είναι χαμηλές στα πρόωρα. Η δραστηριότητα της λακτάσης παραμένει χαμηλή καθ' όλη τη διάρκεια

της ενδομήτριας ζωής, αλλά αυξάνεται αισθητά με το πρώτο εντερικό γεύμα. Τα ένζυμα του μεταβολισμού των αμινοξέων αναπτύσσονται αργά, ειδικά εκείνα που εμπλέκονται στη σύνθεση κυστεΐνης από μεθειονίνη, ταυρίνης από κυστεΐνη και τυροσίνης από φαινυλαλανίνη. Ως εκ τούτου, τα εξαιρετικά πρόωρα βρέφη έχουν αυξημένες διαιτητικές απαιτήσεις για ορισμένα αμινοξέα όπως η κυστεΐνη και η ταυρίνη και είναι επιρρεπή σε τοξικότητα από άλλα όπως η φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και μεθειονίνη. Στην μήτρα υπάρχει μια σταθερή διαπλακουντική διάχυση γλυκόζης έτσι ώστε η γλυκονεογένεση είναι σχετικά ασήμαντη και το εμβρυϊκό ήπαρ ασχολείται κυρίως με την αποθήκευση του γλυκογόνου. Η φωσφορυλάση και η γλυκόζη 6-φωσφατάση εξασφαλίζουν ότι υπάρχει άμεση απελευθέρωση γλυκόζης μετά τη γέννηση και αναβάλλεται η ανάγκη για γλυκονεογένεση μέχρι περίπου τις πρώτες 24-48 ώρες. Αντίθετα, τα εξαιρετικά πρόωρα νεογνά, που γεννιούνται με χαμηλά αποθέματα γλυκογόνου του ήπατος και μειωμένη ικανότητα γλυκονεογένεσης, διατρέχουν υψηλό κίνδυνο υπογλυκαιμίας.^[104]

3.2. Το ανθρώπινο γάλα.

Το ανθρώπινο γάλα είναι μοναδικά προσαρμοσμένο στις διατροφικές ανάγκες του βρέφους παρέχοντας προστασία από μια μεγάλη ποικιλία ασθενειών. Η παρουσία ποικιλίας βιοδραστικών παραγόντων στο ανθρώπινο γάλα συμπεριλαμβανομένων των κυτταρικών και διαλυτών ανοσολογικών παραγόντων, των ολιγοσακχαριτών και ζώντων βακτηρίων φαίνεται να είναι υπεύθυνη για τις ασύγκριτες ανοσολογικές, αντιφλεγμονώδεις και αντι-μολυσματικές ιδιότητές του. Τα βιοδραστικά συστατικά στο ανθρώπινο γάλα συμβάλλουν στην ωρίμανση του γαστρεντερικού συστήματος διαδραματίζοντας βασικό ρόλο στη δημιουργία ενός αποτελεσματικού φραγμού και φυσιολογικού μικροβιώματος, στην άμυνα του ξενιστή, στην προστασία από καρδιαγγειακούς κινδύνους και μεταβολική νόσο, στην «εκπαίδευση» του ανοσοποιητικού συστήματος των βρεφών ευνοώντας την ανάπτυξη της εντερικής και συστηματικής ομοιόστασης καθώς και στην ψυχολογική ευημερία του βρέφους και της μητέρας.^[105,106]

Ο Van Leewenhoek (17^{ος} αι.) ήταν ο πρώτος που κατέγραψε την παρουσία κυττάρων στο γάλα. Αργότερα, χρησιμοποιώντας ιστολογικά κριτήρια, αυτά προσδιορίστηκαν ως συνδυασμός επιθηλιακών και ανοσολογικών κυττάρων. Σε μία μελέτη με υγιείς γυναίκες, οι αναλογίες των τύπων ανοσοκυττάρων που υπήρχαν στο γάλα κατά τη διάρκεια των πρώτων τεσσάρων ημερών της γαλουχίας προσδιορίστηκαν ως 30-47% μακροφάγα, 40-60% ουδετερόφιλα και 5,2-8,9% λεμφοκύτταρα. Σε άλλη μελέτη, τα λεμφοκύτταρα αναλύθηκαν περαιτέρω και 83% ταυτοποιήθηκαν ως T, και 6% ως B κύτταρα. Οι λειτουργικοί ρόλοι που αποδίδονται στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος γάλακτος περιλαμβάνουν και την προστασία του γαστρεντερικού σωλήνα του νεογνού. Οι μικροβιοκτόνες και φαγοκυτταρικές ιδιότητες των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων είναι

κατάλληλες για αυτές τις λειτουργίες, αλλά ο ρόλος των λεμφοκυττάρων, δεδομένου του χρόνου διέλευσης στο γαστρεντερικό σωλήνα, ήταν λιγότερο σαφής. Υπάρχουν πλέον οι αποδείξεις ότι κάποια κύτταρα του ανοσοποιητικού του γάλακτος μπορούν να περάσουν από το γάλα κατά μήκος του τοιχώματος της γαστρεντερικής οδού και στο νεογνό. Επίσης, έχει αποδειχθεί η κίνηση των κυττάρων στο νεογνό υπό πλήρως φυσιολογικές συνθήκες και το ότι αυτά τα κύτταρα επηρεάζουν μεταγενέστερες ανοσολογικές αποκρίσεις στα ενήλικα πια άτομα.^[107]

3.2.1. Σύσταση – σύνθεση.

Το ανθρώπινο γάλα θεωρείται σήμερα ως ένα λειτουργικό και δυναμικό βιολογικό σύστημα. Παρέχει συγχρόνως θρεπτικούς, βιοδραστικούς και ανοσολογικούς παράγοντες όπως ανοσοσφαιρίνες (Igs), λακτοφερρίνη και λυσοζύμη. Η σύνθεση του ανθρώπινου μητρικού γάλακτος δεν είναι ομοιογενής, αλλά ποικίλλει κατά τη διάρκεια της γαλουχίας και μεταξύ των θηλαζουσών γυναικών. Πολλοί παράγοντες, όπως οι εβδομάδες γαλακτοπαραγωγής, ο θηλασμός, η εποχή κύησης, οι γενετικοί παράγοντες και οι διατροφικές συνήθειες, είναι υπεύθυνες για τις διακυμάνσεις των συστατικών του γάλακτος. Σε ένα μεμονωμένο άτομο, η σύνθεση μπορεί ακόμη και να μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ημέρας. Επομένως, καθίσταται αρκετά δύσκολο να καθοριστεί μια γενική σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος. Οι αλλαγές στη σύνθεση είναι μεγαλύτερες και εμφανίζονται ταχύτερα κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας μετά τη γέννηση. Η προστατευτική δράση του μητρικού γάλακτος κατά της διάρροιας, των λοιμώξεων του αναπνευστικού και του ουροποιητικού συστήματος, της NEC, της νοσοκομειακής σήψης, της μέσης ωτίτιδας και των κοινών λοιμώξεων σε πρόωρα βρέφη έχει τεκμηριωθεί. Ειδικότερα, στην περίπτωση της NEC, δημοσιευμένες μελέτες αποδεικνύουν το μικρότερο κίνδυνο (περίπου 80%) ανάπτυξης της νόσου σε θηλάζοντα βρέφη συγκριτικά με άλλα που έλαβαν τυποποιημένο γάλα.^[108]

Η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά, όσον αφορά τη σύνθεση του μητρικού γάλακτος, έχει τις ρίζες της στο μακρινό παρελθόν και συγκεκριμένα στα τέλη του 19^{ου} αιώνα. Σε ανάλυση 94 δειγμάτων γάλακτος βρέθηκε πως υπάρχει μείωση των πρωτεϊνών και του στερεού υπολείμματος καθώς προχωρά η γαλουχία, και τα σάκχαρα έχουν την τάση να αυξάνονται. Υπάρχει επίσης κάποια απόδειξη ότι η σύνθεση του λίπους διαφέρει στα πρώιμα στάδια της γαλουχίας συγκριτικά με εκείνη μεταγενέστερων σταδίων.^[109]

3.2.2. Περίοδοι γαλακτοπαραγωγής.

Η περίοδος γαλακτοπαραγωγής χωρίζεται σε τρία διαφορετικά στάδια:

1. **Πρωτόγαλα ή πύαρ** (1-5 ημέρες μετά τον τοκετό), το οποίο διακρίνεται ως προς τον όγκο, την εμφάνιση και τη σύνθεση. Έχει πολύ μικρή ποσότητα IgG και δεν παρέχει άμεσα συστηματική ανοσία, αλλά έχει υψηλές συγκεντρώσεις προστατευτικών συστατικών όπως sIgA, λακτοφερρίνη και ολιγοσακχαρίτες ανθρώπινου γάλακτος (HMO), που παρέχουν προστασία στους βλεννογόνους. Το ανθρώπινο πρωτόγαλα περιέχει επίσης αυξητικούς παράγοντες και κυταροκίνες όπως EGF (Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας), TGF-β, IL-10 και ερυθροποιητίνη που μπορούν να καταστείλουν φλεγμονώδεις αποκρίσεις στο ανώριμο νεογνικό έντερο. Τα επίπεδα νατρίου, χλωριούχων και μαγνησίου είναι υψηλότερα και τα επίπεδα καλίου και ασβεστίου είναι χαμηλότερα στο πρωτόγαλα.^[110,111]

2. **Μεταβατικό γάλα** (6-15 ημέρες μετά τη γέννηση) το οποίο μοιράζεται μερικά από τα χαρακτηριστικά του πρωτογάλακτος αλλά αντιπροσωπεύει μια περίοδο "αυξανόμενης" παραγωγής γάλακτος για να υποστηρίξει τις θρεπτικές και αναπτυξιακές ανάγκες του ταχέως αναπτυσσόμενου βρέφους.^[110]

3. **Ωριμο γάλα** (μετά από 15 ημέρες).^[110]

3.2.3. Μακροθρεπτικά συστατικά και λειτουργίες τους.

Η μακροθρεπτική σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος ποικίλλει μεταξύ των μητέρων και της γαλουχίας αλλά διατηρείται αξιοσημείωτα σε όλους τους πληθυσμούς παρά τις διακυμάνσεις της μητρικής θρεπτικής κατάστασης.

i. **Πρωτεΐνες:** Το μητρικό γάλα περιέχει πάνω από 400 διαφορετικές πρωτεΐνες οι οποίες εκτελούν ποικίλες λειτουργίες. παρέχοντας διατροφή, έχοντας αντιμικροβιακές και ανοσορυθμιστικές δραστηριότητες, καθώς και διέγερση της απορρόφησης των θρεπτικών ουσιών. Η πραγματική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του μητρικού γάλακτος, είναι 14-16 g/L κατά την πρώιμη γαλουχία, 8-10 g/L σε 3-4 μήνες γαλουχίας και 7-8 g/L στους 6 μήνες. Οι πρωτεΐνες που υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες στο κλάσμα ορού γάλακτος είναι η α-γαλακτοαλβουμίνη, η λακτοφερρίνη, η sIgA, η λυσοζύμη, και η αλβουμίνη.^[110,112,113] Η ανθρώπινη λυσοζύμη είναι ένζυμο που διασπά μια γλυκοσιδική σύνδεση της βακτηριακής πεπτιδογλυκάνης. Λειτουργώντας μόνη η ανθρώπινη λυσοζύμη λύει και σκοτώνει πολλούς Gram+ μικροοργανισμούς, βλάπτοντας την εκτεθειμένη στην επιφάνεια πεπτιδογλυκάνη τους, άλλα όχι και Gram-, τα οποία καταπολεμούνται σε συνέργεια με λακτοφερρίνη.^[114] Η α-λακταλβουμίνη είναι η πιο χαρακτηριστική πρωτεΐνη του ορού γάλακτος. Παρουσιάζεται στο γάλα όλων των ειδών θηλαστικών σε σχετικά υψηλή συγκέντρωση, περίπου 1,1-1,5 g/L και παρουσιάζει ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση ενάντια σε ανθεκτικά στα αντιβιοτικά και ευαίσθητα στελέχη *Streptococcus pneumoniae*.^[115] Η sIgA είναι παρούσα σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις στο πρωτόγαλα και υπάρχει σταθερά σε σημαντικές συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια

της γαλουχίας. Όταν ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά στο ανθρώπινο γάλα, η sIgA θεωρήθηκε η πρώτη προστατευτική γραμμή άμυνας έναντι των παθογόνων. Προστατεύει τα βρέφη από πληθώρα παθογόνων βακτηρίων, ιών, μυκήτων όπως *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigellae*, *Staphylococcus aureus*, Rotavirus, Rubella, Measles, *Candida albicans*.^[118] Οι καζεΐνες κατηγοριοποιούνται ως α-, β- και κ-καζεΐνη. Η κ-καζεΐνη σταθεροποιεί τις αδιάλυτες α- και β-καζεΐνες, σχηματίζοντας ένα κolloειδές εναιώρημα (μικύλλιο). Οι μη πρωτεϊνικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο, συμπεριλαμβανομένης της ουρίας, του ουρικού οξέος, της κρεατίνης, της κρεατινίνης, των αμινοξέων και των νουκλεοτιδίων, αποτελούν ~ 25% του αζώτου του ανθρώπινου γάλακτος. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του γάλακτος από μητέρες πρόωρων νεογνών είναι σημαντικά υψηλότερη. Τα επίπεδα πρωτεϊνών μειώνονται στο ανθρώπινο γάλα κατά τις πρώτες 4 έως 6 εβδομάδες ή περισσότερο της ζωής ανεξάρτητα από το χρόνο τοκετού.^[110,112]

ii. **Λίπη:** 3,8-3,9 g/dl. Τα λιπίδια είναι η μεγαλύτερη πηγή ενέργειας στο μητρικό γάλα, συμβάλλοντας στο 40% -55% της συνολικής ενέργειας του μητρικού γάλακτος και είναι παρόντα ως γαλάκτωμα. Την πλειοψηφία αποτελούν τα τριγλυκερίδια (~98%), τα οποία είναι το κύριο συστατικό του πυρήνα των σφαιριδίων του λίπους και από διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια και χοληστερόλη.^[116] Τα λιπίδια γάλακτος των γυναικών στην Ευρώπη σήμερα περιέχουν τυπικά περίπου 35-40% κορεσμένα λιπαρά οξέα, 45-50% μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και περίπου 15% PUFA (Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα).^[117] Το ανθρώπινο γάλα περιέχει επίσης δύο βασικά λιπαρά οξέα, το λινολεϊκό οξύ (C18:2w6) στο 15% και το άλφα-λινολενικό οξύ (C18:3w3) στο 0,35%. Αυτά τα δύο βασικά λιπαρά οξέα μετατρέπονται αντιστοίχως σε αραχιδονικό οξύ (AA, C20:4w6) και εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, C20:5w3), ενώ το τελευταίο μετατρέπεται περαιτέρω σε δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA, 22:6w3). Τα AA, EPA και DHA είναι σημαντικά για τη ρύθμιση της ανάπτυξης, των φλεγμονωδών αποκρίσεων, της ανοσολογικής λειτουργίας, της όρασης, της γνωστικής ανάπτυξης και των κινητικών συστημάτων στα νεογνήτα. Τα LC-PUFA (Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου) μεταφέρονται από τη μητέρα στο έμβryo στο τρίτο τρίμηνο μέσω του πλακούντα και στα βρέφη μέσω του μητρικού γάλακτος μετά τη γέννηση. Κατά τη διάρκεια του τελευταίου τριμήνου και της νεογνικής περιόδου, ο εγκέφαλος αναπτύσσεται ραγδαία. Η διαφοροποίηση των κυττάρων και η ανάπτυξη ενεργών συνάψεων στον εγκέφαλο απαιτούν συγκεκριμένες απαιτήσεις των DHA και AA. Το 80% του εγκεφάλου DHA αποκτάται από την 26η εβδομάδα κύησης μέχρι τη γέννηση. Η σύνθεση των AA και DHA από το λινολεϊκό οξύ (18:2w6) και το α-λινολενικό οξύ (18:3w3) είναι περιορισμένη στο έμβryo και το νεογνό, οπότε οι απαιτούμενες ποσότητες AA και DHA πρέπει να προέρχονται από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της κύησης, ή ως μητρικό γάλα μετά τη γέννηση. Οι συγκεντρώσεις του EPA και DHA του γάλακτος του μαστού είναι επίσης στενά συνδεδεμένες με τη διατροφική πρόσληψη τους. Το ανθρώπινο γάλα από θηλάζουσες γυναίκες που ακολουθούν χορτοφαγικές δίαιτες έχει <0,1% DHA, σε σύγκριση με 0,2% -0,4% στις

Η.Π.Α. και $\geq 0,8\%$ στην Κίνα, όπου οι προσλήψεις DHA από ψάρια ή άλλες πηγές είναι υψηλές.^[118] Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFA) που βρίσκονται στο μητρικό γάλα είναι σημαντική πηγή ενέργειας, καθώς είναι απαραίτητα για την κανονική ωρίμανση του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι σφινγγομυελίνες, είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τη μυελίνωση του κεντρικού νευρικού συστήματος και έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν τη νευροαναπτυξιακή ανάπτυξη των βρεφών με χαμηλό βάρος γέννησης. Τα λιπίδια του μητρικού γάλακτος, ιδιαίτερα τα μονογλυκερίδια μέσης αλύσου, έχουν αποδειχθεί ότι απενεργοποιούν έναν αριθμό παθογόνων *in vitro*, συμπεριλαμβανομένου του στρεπτόκοκκου ομάδας B (GBS).^[110,112] Η χοληστερόλη είναι ένα βασικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών και επιπλέον, είναι ο πρόδρομος των χολικών αλάτων, των στεροειδών ορμονών και της βιταμίνης D. Έχει βασικές λειτουργίες στο κεντρικό νευρικό σύστημα καθώς ενσωματώνεται σε σημαντικές ποσότητες στη μυελίνη κατά τη διάρκεια της ταχείας ανάπτυξης του εγκεφάλου.^[119]

iii. **Σάκχαρα:** 6,7-7,8 g/dl. Η συγκέντρωση της λακτόζης στο ανθρώπινο γάλα είναι η ελάχιστη μεταβλητή των μακροθρεπτικών συστατικών, αλλά υψηλότερες συγκεντρώσεις λακτόζης βρίσκονται στο γάλα των μητέρων που παράγουν υψηλότερες ποσότητες γάλακτος. Οι άλλοι σημαντικοί υδατάνθρακες του ανθρώπινου γάλακτος είναι οι ολιγοσακχαρίτες (HMO) που αποτελούν περίπου το 1 g/dl στο ανθρώπινο γάλα, ανάλογα με το στάδιο της γαλουχίας και των γενετικών παραγόντων της μητέρας. Οι HMO αποτελούνται από 3 έως 22 σακχαριτιδικές μονάδες (συνηθέστερα 3-8) ανά μόριο και η σύνθεσή τους γίνεται από 5 διαφορετικά σάκχαρα, τα οποία απαντώνται σε ποικίλες διαφορετικές αλληλουχίες και προσανατολισμούς. Υπάρχουν πάνω από 200 διαφορετικοί τύποι ολιγοσακχαριτών που είναι γνωστό ότι βρίσκονται στο ανθρώπινο γάλα. Λειτουργούν ως πρεβιοτικά, καθώς χρησιμεύουν ως μεταβολικά υποστρώματα για συγκεκριμένα βακτήρια όπως το *Bifidobacterium infantis* εντός του βρεφικού γαστρεντερικού σωλήνα. Κατά συνέπεια, αυτά τα βακτήρια έχουν πλεονέκτημα ανάπτυξης και ευδοκούν προστατεύοντας το βρέφος από τον αποικισμό από παθογόνα βακτηρίδια. Άλλα βακτήρια που δεν μπορούν να χρησιμοποιήσουν HMO έχουν μειονέκτημα και αναπτύσσονται είτε ελάχιστα ή καθόλου. Οι HMO διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της νεογνικής διάρροιας και λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι οι HMO ρυθμίζουν τις αντιδράσεις των επιθηλιακών κυττάρων του εντέρου, καθώς επίσης και ως τροποποιητές ανοσοποίησης, αλλάζοντας τόσο το περιβάλλον του εντέρου, μειώνοντας την ανάπτυξη των κυττάρων, προκαλώντας διαφοροποίηση και απόπτωση, καθώς και ανοσολογικές αποκρίσεις, μεταβάλλοντας τις αποκρίσεις των T-κυττάρων σε μία ισορροπημένη παραγωγή Th1/Th2-κυταροκίνης. Ένας μηχανισμός με τον οποίο οι HMO προστατεύουν από γαστρεντερικές λοιμώξεις είναι δρώντας ως δεσμευτές υποδοχέα (decoys) για την αναστολή της προσκόλλησης των παθογόνων στα γλυκοσυζεύγματα της εντερικής επιφάνειας, ένα απαραίτητο πρώτο βήμα στην παθογένεση της νόσου. Επιπλέον, οι ολιγοσακχαρίτες διέρχονται από το λεπτό έντερο και εισέρχονται στο κόλον, όπου ζυμώνονται με αποικίες βακτηρίων. Με την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και

προϊόντων ζύμωσης και τη δημιουργία ενός όξινου περιβάλλοντος στον εντερικό σωλήνα, ο πολλαπλασιασμός προστατευτικών βακτηρίων (π.χ. *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*) συμβάλλει στην τόνωση της ανάπτυξης της άμυνας του ξενιστή.^[110,112,120,121] Σε μελέτη παρατήρησης βρέθηκε μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ειδικών 2-συνδεδεμένων φουκοσυλιωμένων ολιγοσακχαριτών στο ανθρώπινο γάλα και των ποσοστών λοίμωξης από *Campylobacter* σε νεογνά που θηλάζουν. Περαιτέρω, τα βρέφη που έλαβαν γάλα που περιείχε χαμηλή συγκέντρωση λακτο-N-διφλουοεξαόζης είχαν αυξημένη συχνότητα διάρροιας λόγω calicivirus.^[122]

iv. **Γλυκοπρωτεΐνες.** Το ανθρώπινο γάλα περιέχει γλυκοπρωτεΐνες που μπορούν να ρυθμίσουν την σηματοδότηση TLR4. Η δέσμευση TLR4 σε λιποπολυσακχαρίτη, μια δομική πρωτεΐνη του Gram-αρνητικού βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος, εκκινεί μονοπάτι σηματοδότησης, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των NF-κB και των προφλεγμονωδών εκκρίσεων. Η υπερβολική σηματοδότηση από ενεργοποίηση λιποπολυσακχαριτών μπορεί να προκαλέσει συστηματική φλεγμονή και σήψη καθώς και σε NEC όπως έχει ήδη αναφερθεί. Η **lactadherin**, είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που δεσμεύεται ειδικά με ροταϊό, και αναστέλλει την αντιγραφή του ροταϊού παρέχοντας προστασία. Οι ενδογενείς δραστηριότητες της περιλαμβάνουν την προαγωγή της επούλωσης των βλενογόνων και την εξασθένηση της φλεγμονής του εντέρου in vivo και in vitro. Επίσης, προκαλεί απελευθέρωση IL-10 και TGF-β από τα ρυθμιστικά T κύτταρα και προάγει την ανάπτυξη εντερικών δενδριτικών κυττάρων. Η lactadherin αυξάνει την ικανότητα των μακροφάγων να φαγοκυττώνουν αποπτωτικά κύτταρα, βελτιώνοντας έτσι τη φλεγμονώδη διεργασία που επάγεται από τον NF-κB και επιπλέον, την καταστολή της επαγόμενης από λιποπολυσακχαρίτη παραγωγή TNF-α. Η **lactoferrin** είναι κύρια γλυκοπρωτεΐνη στο ανθρώπινο γάλα με πρεβιοτικές ιδιότητες, βρίσκεται στις υψηλότερες συγκεντρώσεις της (5-6,7 g/l) στο πρωτόγαλα και παρουσιάζει πολλές διαφορετικές δράσεις, συμπεριλαμβανομένης της δέσμευσης του σιδήρου, της αντιβακτηριακής και της αντιπαρασιτικής δράσης, και την διέγερση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων. Αναστέλλει ισχυρά την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών σε τοπικές θέσεις φλεγμονής του γαστρεντερικού σωλήνα. Σε περιπτώσεις πρόωρων βρεφών με πολύ χαμηλό βάρος κατά τη γέννηση (VLBW) και εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης (ELBW), η από του στόματος χορήγηση lactoferrin μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης όψιμης έναρξης σηψαιμίας (Late onset sepsis). Τέλος, αναστέλλει τη σηματοδότηση του TLR4 που διεγείρεται από LPS και καταστέλλει την ενδοτοξαμία.^[110,123] In vitro πειράματα κατέδειξαν την αναστολή ανάπτυξης αρκετών ανθρώπινων παθογόνων παρουσία ανασυνδυσμένης ανθρώπινης λακτοφερίνης, συμπεριλαμβανομένων *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholerae* και *Candida albicans*.^[119] Επίσης έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει in vitro την αντιγραφή CMV, HIV, HSV, HBV, HCV, HPV, Rotavirus, Adenovirus.^[124]

v. **Ενέργεια:** Παρέχει 65 - 70 kcal/dL και συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την περιεκτικότητα σε λιπαρά.

Η σύνθεση των μακροθρεπτικών συστατικών διαφέρει μεταξύ μητέρων με πρόωρο ή μη τοκετό όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3). Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι μετά την παρέλευση 4μήνου μετά τον τοκετό οι συγκεντρώσεις μακροθρεπτικών συστατικών συνδέονται με έναν ή περισσότερους από τους ακόλουθους παράγοντες: αναλογία σωματικού βάρους προς ύψος της μητέρας, την πρόσληψη πρωτεϊνών, την επιστροφή της εμμηνου ρύσεως και τη συχνότητα θηλασμού. Η μελέτη αυτή διαπίστωσε επίσης ότι οι μητέρες που παράγουν υψηλότερες ποσότητες γάλακτος τείνουν να έχουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε λίπος και πρωτεΐνες αλλά υψηλότερες συγκεντρώσεις λακτόζης.^[110]

Συγγραφέας (έτος), n	Πρωτεΐνη (g/dl) Mean ±2 SD	Λίπος (g/dl) Mean ±2 SD	Λακτόζη (g/dl) Mean ±2 SD	Ενέργεια (Kcal/dl) Mean ±2 SD
Τελειόμηνα, ώριμο γάλα				
Nommsen et al. (1991), n=58	1.2 (0.9, 1.5)	3.6 (2.2, 5.0)	7.4 (7.2, 7.7)	70 (57, 83)
Δείγματα δοτριών γάλακτος				
Wojcik et al (2009), n=415	1.2 (0.7, 1.7)	3.2 (1.2, 5.2)	7.8 (6.0, 9.6)	65 (43, 87)
Michaelsen et al (1990), n=2553	0.9 (0.6, 1.4)	3.6 (1.8, 8.9)	7.2 (6.4, 7.6)	67 (50,115)
Αντιπροσωπευτικές τιμές του ώριμου γάλακτος				
Πρότυπο αναφοράς	0.9	3.5	6.7	65 - 70
Πρόωρα, πρώτες 8 εβδομάδες				
Bauer & Gerst (2011) <29 εβδομάδων, n=52 32-33 εβδομάδων, n=20	2.2 (1.3, 3.3) 1.9 (1.3, 2.5)	4.4 (2.6, 6.2) 4.8 (2.8, 6.8)	7.6 (6.4, 8.8) 7.5 (6.5, 8.5)	78 (61, 94) 77 (64, 89)
Δότριες πρόωρων				
Hartmann (2012), n=47	1.4 (0.8, 1.9)	4.2 (2.4, 5.9)	6.7 (5.5, 7.9)	70 (53, 87)
Πίνακας 3: Σύσταση ανθρώπινου γάλακτος βάσει βιβλιογραφικών αναφορών. Ανατύπωση από: Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. <i>Pediatr Clin North Am.</i> 2013; 60(1): 49–74.				

3.2.4. Αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις του μητρικού γάλακτος.

Το μητρικό γάλα περιέχει πολλά προστατευτικά αντιφλεγμονώδη θρεπτικά συστατικά που περιέχουν προστασία μέχρι να μπορέσει το βρέφος να αναπτύξει τους δικούς του ώριμους αντιφλεγμονώδεις μηχανισμούς. Χρησιμοποιώντας το ανθρώπινο εντερικό μοντέλο ανάπτυξης, έχει δειχθεί ότι ο ορός πρωτογάλακτος όχι μόνο μειώνει την επιθηλιακή IL-8, αλλά μπορεί επίσης να μειώσει και την έκφραση του TLR-4. Αναφέρεται (Claud et al, 2003) ότι αρκετές πρωτεΐνες (όπως TGF-β, ερυθροποιητίνη και IL-10) σε συγκεντρώσεις που βρίσκονται στο μητρικό γάλα μπορούν να μειώσουν την υπερβολική απόκριση φλεγμονής (π.χ. IL-8).^[120]

3.2.5. Βιοδραστικοί παράγοντες.

i. **Εντερική ωρίμανση και επιδιόρθωση: Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF).** Είναι κρίσιμος για την ωρίμανση και την επούλωση του εντερικού βλεννογόνου. Υπάρχουν πολλαπλοί προστατευτικοί μηχανισμοί δράσης για τον EGF στο έμβρυο του βρέφους, συμπεριλαμβανομένης της αναστολής προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και διόρθωσης μεταβολών σε πρωτεΐνες που επάγονται από τον TNF-α. Ο αυξητικός παράγοντας δέσμευσης ηπαρίνης (HB-EGF) μέλος της οικογένειας EGF και ο πρωταρχικός αυξητικός παράγοντας υπεύθυνος για την επιδιόρθωση μετά από NEC. Το επίπεδο EGF στο πρωτόγαλα είναι 2000 φορές υψηλότερο και στο ώριμο γάλα είναι 100 φορές υψηλότερο από ό, τι στον μητρικό ορό. Επιπλέον, το γάλα από μητέρες πρόωρων νεογνών περιέχει υψηλότερα επίπεδα EGF.^[110,125]

ii. **Ανάπτυξη ιστού: Η υπεροικογένεια αυξητικού παράγοντα τύπου ινσουλίνης (IGF).** Οι IGF-I και IGF-II βρίσκονται στο ανθρώπινο γάλα. Τα επίπεδα είναι τα υψηλότερα στο πρωτόγαλα και μειώνονται σταθερά κατά τη διάρκεια της γαλουχίας. Σε τρωκτικά, η χορήγηση ανθρώπινου IGF-I κατά τη διάρκεια της χειρουργικού stress/TPN προκαλεί αυξημένη ανάπτυξη ιστού και ελαττώνει την ατροφία του εντέρου μολονότι δεν έχει διεξαχθεί καμία μελέτη σε ανθρώπους. Ο IGF-I μπορεί επίσης να διαδραματίσει κάποιο ρόλο στην επιβίωση των εντεροκυττάρων μετά από εντερική βλάβη από οξειδωτικό στρες. Τα θηλάζοντα βρέφη έχουν υψηλότερο κυκλοφορούντα IGF-I στον ορό. Η λειτουργία του απορροφούμενου IGF δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη αλλά η εντερική χορήγηση IGF-I διεγείρει την ερυθροποίηση.^[110]

iii. **Εντερική ανάπτυξη και πρόληψη της αναιμίας: Ερυθροποιητίνη (Epo).** Το γάλα περιέχει σημαντικές ποσότητες Epo, η οποία είναι η κύρια ορμόνη υπεύθυνη για την αύξηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC). Αν και περιγράφηκε για πρώτη φορά ως κύριος ρυθμιστής της ερυθροποίησης, η Epo παρουσιάζει πρόσθετες βιολογικές δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένης της προστασίας των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η απώλεια αίματος, η παθολογία του εντέρου και η ανωριμότητα του αιμοποιητικού συστήματος συμβάλλουν στην αναιμία του πρόωρου τοκετού. Η χορήγηση της Epo σε συνδυασμό με το σίδηρο, μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη. Επιπλέον, η Epo είναι ένας σημαντικός τροφικός παράγοντας συσφίγγοντας τις κυτταρικές συνδέσεις του εντερικού βλεννογόνου καθώς και την αναστολή της δράσης της IFN-γ. Λειτουργικοί υποδοχείς Epo υπάρχουν στις λάχνες εμβρύου και νεογνού, γεγονός που υποδηλώνει φυσιολογικούς ρόλους στο αναπτυσσόμενο έντερο. Αυτά τα ευρήματα και προηγούμενες μελέτες που δείχνουν τη σημασία ενός άθικτου εντερικού φραγμού στον περιορισμό της εξέλιξης των ασθενειών του εντέρου οδηγούν συλλογικά στην υπόθεση μας ότι η Epo μπορεί να προστατεύει τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού του εντέρου, μειώνοντας έτσι τη συχνότητα εμφάνισης NEC.^[110,126]

iv. **Transforming growth factor-β2 (TGF-β2).** Εκκρίνεται στο μητρικό γάλα σε σημαντικές ποσότητες. Από τις τρεις ανθρώπινες ισομορφές (TGF-β1, 2 και 3), ο TGF-β2 είναι πιο άφθονος στο μητρικό γάλα. Η ομολογία αμινοξέων μεταξύ ανθρώπινου και βόειου είναι 100%. Τα επίπεδά του είναι αυξημένα στο ανθρώπινο γάλα σε σύγκριση με το βόειο και παρά την παστερίωση του βόειου γάλακτος, παραμένει ενεργός. Υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που υποδεικνύουν ότι το TGF-β2 του μητρικού γάλακτος μπορεί να είναι σημαντική πηγή TGF-β κατά τη διάρκεια της νεογνικής περιόδου, όταν η ενδογενής παραγωγή του TGF-β στο έντερο είναι ακόμη ανεπαρκής. Η εντερική ωρίμανση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης του TGF-β2 στο έντερο. Από μελέτη, φαίνεται ότι η ρύθμιση των ανώριμων ανθρώπινων εντεροκυττάρων (IEC) με TGF-β2 σε συγκέντρωση που αντιστοιχεί σε εκείνη του μητρικού γάλακτος ρυθμίζει την ανταπόκρισή τους στην επακόλουθη προ-φλεγμονώδη διέγερση. Η έκκριση των φλεγμονωδών κυταροκινών IL-8 και IL-6 ως αποτέλεσμα απόκρισης προς την IL-1β και TNF-α μειώνεται σημαντικά σε ανθρώπινα εμβρυϊκά IECs. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η αντιφλεγμονώδης δράση του TGF-β2 του μητρικού γάλακτος σε ανώριμα ανθρώπινα IECs εκτείνεται σε φλεγμονώδεις αποκρίσεις που προκαλούνται σε ένα ευρύ φάσμα ενδογενών και μικροβιακών σημάτων και διαμεσολαβείται από διάφορους ξεχωριστούς μηχανισμούς.^[103,127]

v. **Ανοσοσφαιρίνες. (Igs).** Οι ανοσοσφαιρίνες είναι το πλέον αναγνωρισμένο συστατικό ανοσοπροστασίας στο ανθρώπινο μητρικό γάλα. Αποτελούν μια ξεχωριστή ομάδα πρωτεϊνών ικανών να αναγνωρίσουν παθογόνα. Στο νεογέννητο πλήρες έμβρυο, η παραγωγή sIgA ελλείπει για περίπου 10 ημέρες μετά τη γέννηση και απαιτούνται 30 ημέρες για την παραγωγή προστατευτικών επιπέδων. Για να αντισταθμιστεί αυτή η ανεπάρκεια, το μητρικό γάλα περιέχει μεγάλες ποσότητες sIgA, το οποίο αντιπροσωπεύει το 90% των συνολικών ανοσοσφαιρινών στο γάλα. Πάνω από 50 χρόνια πριν, βρέθηκε ότι υπήρχαν έως και 12 g/L sIgA σε ανθρώπινο πρωτόγαλα και 1 g/L σε ώριμο γάλα. Η ανοσοσφαιρίνη M (IgM) στην πενταμερική μορφή είναι η επόμενη πλέον άφθονη. Υπάρχει μια μικρή ποσότητα ανοσοσφαιρίνης G (IgG) στο πρωτόγαλα και το μεταβατικό γάλα, με την IgG να καταλαμβάνει πολύ μεγαλύτερο ποσοστό ανθρώπινου γάλακτος σε ώριμο γάλα. Η sIgA δεσμεύει παγιδεύοντας τα παθογόνα μέσα στα στρώματα βλεννης χωρίς να διεγείρει μια σημαντική φλεγμονώδη απόκριση. Η IgM προκαλεί την συγκόλληση των αναγνωρισμένων παθογόνων και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος καθώς και τις ανοσολογικές αποκρίσεις της έμφυτης ανοσίας. Η IgG ενεργοποιεί τη φαγοκυττάρωση με τη μεταφορά αντιγόνου και την ενεργοποίηση των κυττάρων B επηρεάζοντας την προσαρμοστική ανταπόκριση. Ο κατάλογος των παθογόνων παραγόντων (ιών, βακτηριδίων, μυκήτων και παρασίτων) που αναγνωρίζονται από τις Igs του ανθρώπινου γάλακτος είναι εκτενής.^[128,129]

3.3. Προτυποποιημένα γάλατα πρόωρων. (Formulas).

Σύμφωνα με τον FDCA (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act), ως formula ορίζεται «ένα τρόφιμο του οποίου σκοπός είναι να αντιπροσωπεύει ειδική διατροφή ως τρόφιμο για βρέφη λόγω της προσομοίωσής του με το ανθρώπινο γάλα ή της καταλληλότητάς του ως πλήρες ή μερικό υποκατάστατο του ανθρώπινου γάλακτος.» Εξ ορισμού, formula είναι υποκατάστατο του ανθρώπινου γάλακτος, το οποίο είναι η βέλτιστη πηγή διατροφής για ένα βρέφος. Οι πρώτες βρεφικές Formulas παρασκευάστηκαν με αγελαδινό γάλα με στόχο την ομοιότητα με τη μακροθρεπτική σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος και την υποκατάσταση αυτού σε ορισμένες συνθήκες. Αναπτύχθηκαν για να ικανοποιήσουν τις σχετικά υψηλές απαιτήσεις σε πρωτεΐνες, ενέργεια και ιχνοστοιχεία που είναι απαραίτητα για την υποστήριξη ενός ρυθμού ανάπτυξης σε πρόωρα βρέφη πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (VLBW) που θα προσεγγίζει εκείνο του φυσιολογικού υγιούς αναπτυσσόμενου εμβρύου στο τρίτο τρίμηνο της ενδομήτριας ζωής. Η πρώτη σύσταση από την American Academy of Pediatrics (AAP), έγινε το 1967 με αρκετές αναθεωρήσεις ως σήμερα με καθορισμένα επίπεδα για 29 θρεπτικά συστατικά και μέγιστα επίπεδα για 9. Η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών σε formulas συγκριτικά με το ανθρώπινο γάλα, έχει ως αποτέλεσμα αυτές να έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις θρεπτικών ουσιών, καθώς περιέχουν περισσότερη πρωτεΐνη (2,4 g/100 mL ή 3 g/100 kcal), ενέργεια (68-100 kcal/100 mL), ασβέστιο (133-146 mg/100 mL ή 165-180 mg/100 kcal) φωσφόρο (67-81 mg/100 mL ή 83-100 mg/100 kcal) συγκριτικά με formulas για τελειόμηνα. Περαιτέρω τροποποιήσεις στη σύνθεσή τους υιοθετήθηκαν μετά τη δημοσίευση μελετών που έδωσαν πιο ορθολογικά στοιχεία για τις διατροφικές απαιτήσεις που ήταν ειδικές για τα πρόωρα νεογνά VLBW και ELBW (βάρος γέννησης <1000 g). Στο παράρτημα Α παρατίθενται αναλυτικότερα τα διατροφικά στοιχεία ορισμένων σκευασμάτων.^[130,131]

i. **Λίπη:** Η πηγή λίπους στις νεότερες formulas για πρόωρα είναι ένα μείγμα φυτικών ελαίων, και περιέχει μεταξύ 10%-50% τριγλυκερίδια μέσης αλύσου (MCTs). Υπάρχει μεγαλύτερη ανάγκη για λιπάσες ώστε να υδρολυθούν λιπαρά οξέα μέσω μήκους αλυσίδας άνθρακα, τα οποία επίσης δεν απαιτούν μεγάλη δεξαμενή χολικού άλατος για την απορρόφησή τους. Η συγκέντρωση χολικών αλάτων είναι χαμηλότερη στα πρόωρα βρέφη και συνεπώς υψηλότερου βαθμού δυσαπορρόφηση. Τα MCT είναι επίσης καταλληλότερα για την παραγωγή ενέργειας σε σχέση με τα λιπαρά οξέα μακρύτερης αλύσου και δεν συμβάλλουν τόσο στην αποθήκευση λίπους, χωρίς όμως να βελτιώνουν απαραίτητως το ενεργειακό ισοζύγιο ή την αύξηση βάρους.^[130]

ii. **Υδατάνθρακες:** Οι κυριότερες πηγές είναι η σακχαρόζη και η λακτόζη. Η υδρόλυση, της λακτόζης παράγει γλυκόζη και γαλακτόζη η οποία είναι απαραίτητη για την παραγωγή γλυκογόνου στο ήπαρ και η υδρόλυση της σακχαρόζης παράγει γλυκόζη και φρουκτόζη, απλών σακχάρων που απορροφούνται εύκολα μέσω των εντεροκυττάρων. Οι πιο πρόσφατες formulas

αντικαθιστούν τη σακχαρόζη με σχετικά εύκολα εύπεπτα πολυμερή γλυκόζης χαμηλής ωσμωτικότητας. Παρ' όλα αυτά, η λακτόζη παραμένει σημαντική για την κανονική διατροφή και ειδικά για την πρόληψη της NEC, ίσως εν μέρει με τη μείωση του περιφερικού εντερικού pH που καταστέλλει την ανάπτυξη των ευκαιριακών βακτηρίων και προάγει την ανάπτυξη *bifidobacterium* και *lactobacillus*. Η λακτόζη είναι επίσης σημαντική για την ανάπτυξη του βουτυρικού στο παχύ έντερο που βελτιώνει την ανάπτυξη του παχέος εντέρου, ιδιαίτερα ενισχύοντας τον πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των κυττάρων του και τη σταθεροποίηση των ενδοεπιθηλιακών συνδέσεων.^[130]

iii. **Πρωτεΐνες:** Κύρια πηγή πρωτεϊνών είναι το αγελαδινό γάλα. Ο ορός γάλακτος αποτελεί το κύριο πρωτεϊνικό προϊόν και όχι η καζεΐνη η οποία τήκεται πιο εύκολα στο όξινο περιβάλλον του στομάχου, οδηγώντας σε βραδύτερη πέψη και βραδύτερη γαστρική κένωση, οι οποίες οδηγούν σε βραδύτερες αυξήσεις στις συγκεντρώσεις αμινοξέων στο πλάσμα. Η αναλογία νεότερης περιεκτικότητας 60% σε ορό γάλακτος και 40% καζεΐνης έχει ως αποτέλεσμα ταχύτερη γαστρική κένωση, πέψη και απορρόφηση αμινοξέων, καθώς και μικρότερη επίπτωση μεταβολικής οξέωσης. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των formulas για πρόωρα είναι σημαντικά υψηλότερη συγκριτικά με αυτή των formulas για τελειόμηνα ή των ενισχυμένων γαλάτων, παρέχοντας έως και 3,5 g/kg/d στους όγκους εντερικής σίτισης των 150 ml/kg/d. Μελέτες έχουν δείξει επανειλημμένα ότι αυτή η πρόσληψη πρωτεΐνης, με αυξημένη περιεκτικότητα σε ενέργεια και ανόργανα συστατικά, προκαλεί αύξηση μυϊκής μάζας, αύξηση μήκους οστού και σώματος και υψηλότερες συγκεντρώσεις λευκοματίνης και προαλβουμίνης σε βρέφη VLBW. Νέες γενεές formulas υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη που περιέχουν 2,7-2,9 g/100 mL ή 3,3-3,6 g/100 kcal και απόδοση έως 4,5 g/kg/d πρωτεΐνης ενδείκνυται για ELBW και VLBW πρόωρα που δεν αναπτύσσονται καλά, ή έχουν παρουσιάσει ένα μεγάλο σωρευτικό έλλειμμα πρόσληψης πρωτεΐνης, ή έχουν ανεπαρκή αύξηση στο μήκος και/ή της περιμέτρου περιφέρειας της κεφαλής ή επί περιορισμών όγκου υγρού.^[130]

iv. **Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία:** Περιέχουν υψηλότερες περιεκτικότητες νατρίου και καλίου για να αντισταθμίσουν τις νεφρικές απώλειες. Το ασβέστιο και ο φωσφόρος είναι επίσης υψηλότερα για να βοηθήσουν στην εφάλατωση των οστών, αν και τα ELBW και VLBW πρόωρα παραμένουν οστεοπενικά και δεν καλύπτουν την εφάλατωση των οστών έως την ηλικία του τελειόμηνου. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνες είναι επίσης υψηλότερη, ιδιαίτερα στις λιποδιαλυτές βιταμίνες A και E, για να αντισταθμίσει την περιορισμένη απορρόφηση λίπους και να βοηθήσει στην αντιμετώπιση πολλών φλεγμονωδών συνθηκών που βιώνουν αυτά τα βρέφη. Ακόμη και με αυτά τα υψηλότερα περιεχόμενα, οι βιταμίνες A και D θα μπορούσαν να απαιτήσουν επιπλέον συμπληρώματα. Τα περισσότερα μικροθρεπτικά συστατικά παρέχονται επαρκώς, αλλά τα 1,8 mg/100 kcal σιδήρου που περιέχονται σε πολλές formulas ενδέχεται να μην επαρκούν για τα ταχέως αναπτυσσόμενα πρόωρα νεογνά που δεν μεταγγίζονται. Παρά την υψηλότερη περιεκτικότητα σε

ιχνοστοιχεία και βιταμίνες, τα περισσότερα προϊόντα έχουν σχετικά ασφαλή ωσμωτικότητα, από 210 έως 220 mOsm/L στα 20 kcal/oz, έως 250-270 mOsm /L στα 24 kcal/oz.^[130]

3.4. Ενισχυμένο ανθρώπινο γάλα. (Μητέρας ή δότριας).

Το ανθρώπινο γάλα είναι η συνιστώμενη θρεπτική πηγή για τα τελειόμηνα για τους πρώτους έξι μήνες της ζωής. Ωστόσο, μόνο το μητρικό γάλα μπορεί να μην ανταποκρίνεται στις συνιστώμενες διατροφικές ανάγκες των αναπτυσσόμενων πρόωρων βρεφών καθώς η περιεκτικότητά του σε θρεπτικά συστατικά είναι ανεπαρκής σε πρωτεΐνες, νάτριο, φωσφορικά άλατα και ασβέστιο. Επιπλέον, μεγάλοι όγκοι υγρών μπορεί να απαιτούνται για να παρέχουν επαρκείς θερμίδες για να διατηρήσουν επαρκή ανάπτυξη. Ήδη τα περισσότερα πρόωρα βρέφη συσσωρεύουν ελλείμματα ενέργειας, πρωτεϊνών, ιχνοστοιχείων και άλλων θρεπτικών συστατικών Μέχρι να πάρουν εξιτήριο κατά την 36^η-40^η εβδομάδα, πολλά νεογνά, ειδικά εκείνα που γεννήθηκαν πολύ πρόωρα ή με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (VLBW), υπολείπονται σημαντικά σε σχέση με την ηλικία τους. Παρότι συνήθως επιτυγχάνουν κάποια "αύξηση" μετά την έξοδο από το νοσοκομείο, τα ελλείμματα ανάπτυξης μπορούν να επιμείνουν για αρκετά έτη. Η αργή ανάπτυξη συνδέεται με βλάβες του νευρικού συστήματος στη μετέπειτα παιδική ηλικία και με φτωχότερα γνωστικά και μαθησιακά αποτελέσματα. Η έλλειψη ιχνοστοιχείων ενέχει υψηλότερους κινδύνους μεταβολικής οστικής νόσου και βραδείας ανάπτυξης του ερειστικού συστήματος, αν και παραμένει αβεβαιότητα για μακροχρόνιες επιδράσεις στην οστική μάζα και την υγεία. Επιπλέον, εκφράζεται η ανησυχία ότι η διατροφική ανεπάρκεια και ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης κατά την πρώιμη βρεφική ηλικία μπορεί να έχουν συνέπειες για τη μακροπρόθεσμη μεταβολική και καρδιαγγειακή υγεία.^[132,133] Η ανάγκη για ενίσχυση του μητρικού γάλακτος για VLBW βρέφη αναγνωρίστηκε πριν από περισσότερο από 40 χρόνια. Καθώς η πρακτική της δυναμικής εξέλιξης έχει σημειώσει πρόοδο με την πάροδο των ετών, η αρχική προσέγγιση ήταν γενικά η προσθήκη ενός ή περισσότερων θρεπτικών ουσιών, ως ενισχυτές, σε ποσότητες ικανές ώστε να αυξήσουν τα επίπεδα των θρεπτικών συστατικών του γάλακτος σύμφωνα με τις απαιτήσεις των VLBW βρεφών.^[134] Οι ενισχυτές προορίζονται να αναμιχθούν με εκφρασμένο μητρικό γάλα με στόχο την επίτευξη περίπου 10% θρεπτικού εμπλουτισμού διατηρώντας ταυτόχρονα τη βέλτιστη αναλογία πρωτεϊνών προς ενέργεια. Η ενίσχυση των θρεπτικών συστατικών μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική για τα βρέφη που λαμβάνουν ανθρώπινο γάλα δότη, το οποίο περιέχει χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης, ενέργειας και ανόργανων συστατικών από το μητρικό. Οι διαθέσιμοι υδροποιημένοι ενισχυτές είναι ακριβοί και η χρήση τους είναι λιγότερο εφικτοί σε περιοχές με χαμηλή οικονομική ανάπτυξη. Εναλλακτικά, ο εμπλουτισμός του μητρικού γάλακτος με την προσθήκη σκόνης αγελαδινού γάλακτος μπορεί να αποτελεί τη λύση.^[133] Η **τυποποιημένη ενίσχυση** είναι η πλέον διαδεδομένη στρατηγική που σε συνιστώμενες δόσεις, αυτά τα προϊόντα μπορεί να

παρέχουν επιπλέον 1-1,5 g/dL πρωτεΐνης, μέχρι 1 g/dL λίπους και 0,4-3,4 g/dL υδατανθράκων. Ένας άλλος τρόπος είναι η **ρυθμιζόμενη ενίσχυση**, αναλόγως των μεταβολών του αζώτου ουρίας (BUN) που είναι δείκτης για την αξιολόγηση επαρκούς περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες. Τελευταία με τη χρήση φασματοσκοπίας υπερύθρων είναι δυνατή η **στοχευμένη ενίσχυση**, που επιτρέπει την προσαρμογή των μακροθρεπτικών συστατικών με βάση την ανάλυση του ανθρώπινου γάλακτος σε πραγματικό χρόνο, με σκοπό την «στόχευση» της σύνθεσης του μητρικού γάλακτος και την προσφορά στα βρέφη VLBW μιας σταθερής και καθορισμένης πρόσληψης θρεπτικών συστατικών.^[135]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο.

4.1. NEC και πρόωμη σίτιση.

Στα προηγούμενα κεφάλαια έγινε αναφορά στα βασικά χαρακτηριστικά της νόσου, κλινικά, εργαστηριακά, απεικονιστικά, καθώς και στην παθοφυσιολογία. Επίσης έγινε περιγραφή των βασικών τρόπων σίτισης με το μητρικό γάλα να αποτελεί τον ακρογωνιαίό λίθο, αλλά και τη χρήση ενισχυτών αυτού καθώς και τα προτυποποιημένα γάλατα που κυκλοφορούν στο εμπόριο για την ενίσχυση των πρόωρων νεογνών ιδιαίτερα αυτών με πολύ χαμηλό βάρος γέννησης. Το ερώτημα που απασχολεί την επιστημονική κοινότητα και ιδιαίτερα τους ιατρούς που έχουν επιφορτιστεί με το έργο της φροντίδας αυτής της κατηγορίας των ασθενών, ευρισκόμενοι πάντα σε λεπτές ισορροπίες, είναι η πρόωμη σίτιση. Είναι η πρόωμη σίτιση προστατευτικός παράγοντας έναντι της NEC ή μήπως προκαλεί καταστροφικά αποτελέσματα; Πλήθος μελετών και ανασκοπήσεων έχουν δημοσιευτεί με ομολογουμένως αντικρουόμενα αποτελέσματα.

4.2. Πρακτικές σίτισης πρόωρων.

Η προσαρμογή στην εντερική διατροφή είναι μια από τις πρώτες προκλήσεις που αντιμετωπίζει το νεογνό η οποία είναι καλά ανεκτή στα τελειόμηνα νεογνά όπου το γάλα της μητέρας ή οι formulas παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τη διατήρηση της ομοιόστασης του γαστρεντερικού, επιτρέποντας την πέψη, την απορρόφηση, τη λειτουργία των εντερικών φραγμών και την ανάπτυξη της ανοσολογικής ανοχής. Αντίθετα, πολλά πρόωρα νεογνά έχουν διατροφική δυσανεξία, δεδομένου ότι τα διαιτητικά θρεπτικά συστατικά είναι τα πιο αποτελεσματικά ερεθίσματα για την εντερική ανάπτυξη. Η ανικανότητα να ανοχθεί της εντερικής σίτισης οδηγεί σε περαιτέρω ατροφία του γαστρεντερικού λόγω της απουσίας αυξητικών παραγόντων όπως το glucagon-like peptide 2 (GLP-2), η γαστρίνη, η χολοκυστοκίνη, το πεπτίδιο ΥΥ και η νευροτενίνη, και μπορεί να συμβάλει περαιτέρω στην βακτηριακή υπερανάπτυξη - μετατόπιση και τη σήψη. Μέχρι σήμερα, η περίοδος TPN σε πρόωρα βρέφη δεν έχει συνδεθεί οριστικά με αυξημένο κίνδυνο NEC, αλλά έχει συσχετιστεί με άλλες επιπλοκές όπως η στεάτωση του ήπατος, η χολόσταση, η θρόμβωση και η αυξημένη ευαισθησία σε φλεγμονώδη ερεθίσματα. Οι νεογνολόγοι προσπαθούν να βελτιστοποιήσουν τη διατροφική υποστήριξη για τα πρόωρα βρέφη, τα οποία συχνά απαιτούν ολική παρεντερική διατροφή (TPN) ή TPN με ελάχιστη εντερική διατροφή. Είναι καλά τεκμηριωμένο το γεγονός ότι η TPN, αν και απαραίτητη, μπορεί να εμποδίσει την περαιτέρω ανάπτυξη του εντέρου εξαιτίας της έλλειψης τροφικών παραγόντων.^[136,137]

4.2.1. Ανθρώπινο γάλα ή formula;

Μια πρώτη απάντηση δόθηκε 45 πριν έτη: «Μπορεί να θεωρηθεί ότι το μητρικό γάλα θα αποτρέψει τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα στο ανθρώπινο πρόωρο βρέφος».^[138] Τα τυποποιημένα γάλατα που είναι διαθέσιμα σήμερα έχουν σχεδιαστεί για να ταιριάζουν με τη σύνθεση του ανθρώπινου γάλακτος σε σχέση με τις θερμίδες και τα θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται για την ανάπτυξη των πρόωρων βρεφών. Εντούτοις, αυτοί οι συνθετικοί τύποι δεν παρέχουν τα μη θρεπτικά συστατικά του ανθρώπινου γάλακτος όπως sIgA, λυσοζύμη, ολιγοσακχαρίτες, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF). Αυτά τα μη θρεπτικά συστατικά του ανθρώπινου γάλακτος συμβάλλουν στην ακεραιότητα του βλεννογόνου του γαστρεντερικού, λειτουργούν και ενισχύουν την ανοσία έναντι λοιμώξεων και παρέχοντας προστασία έναντι της NEC. Ωστόσο, υπάρχουν ανησυχίες ότι οι διατροφικές ανάγκες των πρόωρων ή VLBW, μπορεί να μην καλύπτονται πλήρως από την εντερική σίτιση με το μητρικό γάλα. Αυτές οι ελλείψεις μπορεί να έχουν αρνητικές συνέπειες για την ανάπτυξη. Υπάρχουν δεδομένα ότι η συμπλήρωση του ανθρώπινου γάλακτος με θρεπτικά ενισχυτικά αυξάνει τους βραχυχρόνιους ρυθμούς ανάπτυξης.^[139,140] Το 1990, οι Lucas και Cole διεξήγαγαν μελέτη διατροφής με θέμα την επίδραση των πρώιμων διατροφικών συνηθειών σε πρόωρα βρέφη και ανέφεραν μείωση του NEC σε βρέφη που σιτίστηκαν μόνο με μητρικό γάλα σε σχέση αυτά που έλαβαν συνολική φόρμουλα γάλακτος βοοειδών.^[141] Ο ίδιος συγγραφέας λίγα χρόνια αργότερα αναφέρει ότι τα βρέφη με μικτή σίτιση ανθρώπινου γάλακτος και formula είχαν ενδιάμεσο επίπεδο προστασίας.^[142] Σε μεταανάλυση 6 δημοσιευμένων μελετών και συμμετοχή τόσο πρόωρων όσο και τελειόμηνων, βρέθηκε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης NEC στην ομάδα που έλαβε formula: RR 2,77 (95% CI 1,40-5,46).^[143] Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν σε μελέτη 1587 βρεφών <1250g. Το ποσοστό θνησιμότητας της ομάδας σίτισης με formula ήταν 17,2% και το αντίστοιχο ποσοστό της ομάδας του μητρικού γάλακτος ήταν 13,6%. Υπήρξε σημαντική μείωση των περιπτώσεων NEC ή/και του θανάτου ($p=0,0002$) στην ομάδα του μητρικού γάλακτος καθώς και της χειρουργικής NEC ($p<0,00002$).^[144] Άλλη μελέτη έδειξε ότι τα VLBW βρέφη που δεν έλαβαν αποκλειστικά μητρικό γάλα για ελάχιστη περίοδο 7 ημερών είχαν 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης NEC σε σύγκριση με εκείνα που έλαβαν για ≥ 7 ημέρες.^[145] Στο ίδιο μήκος κύματος, οι ρυθμοί NEC και NEC που απαιτούν χειρουργική επέμβαση ήταν αξιοσημείωτα χαμηλότεροι στις ομάδες που έλαβαν αποκλειστικά ανθρώπινο γάλα σε σύγκριση με την ομάδα της formula. Μείωση της NEC κατά 50% και της χειρουργικής NEC σχεδόν κατά 90% στα βρέφη που σιτίστηκαν αποκλειστικά με ανθρώπινο γάλα. Μία μείωση κατά 50% της NEC θα αποτρέψει μεταξύ 1300 και 1850 περιπτώσεων ετησίως, με ότι συνεπάγεται αυτό στον κίνδυνο θανάτου και της μακροχρόνιας νοσηρότητας, και ένα κόστος νοσηλείας που υπολογίζεται σε 138 000 έως 238 000 \$ ανά περίπτωση.^[142] Σύμφωνα με τις τελευταίες

κατευθυντήριες οδηγίες της ASPEN, είναι προτιμότερη η χρήση ανθρώπινου γάλακτος από ότι το γάλα αγελάδας ή formula.^[146] Όσον αφορά στο ερώτημα αν οι ενισχυτές μητρικού γάλακτος έχουν κάποια επίδραση στην επίπτωση της NEC, μεταανάλυση 11 μελετών με συμμετοχή 882 βρεφών δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά.^[147]

4.2.2. Πρόωμη ελάχιστη σίτιση.

Μερικοί έχουν υποδείξει ότι η σίτιση αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης, ενώ άλλοι δείχνουν ότι παρέχει προστασία έναντι της NEC. Αρκετοί μηχανισμοί θεωρείται ότι εμπλέκονται και επιγραμματικά αναφέρονται παρακάτω (πίνακας 4).^[148]

Προστατευτικοί.	Επιβαρυντικοί.
Βιοδραστικοί παράγοντες ανθρώπινου γάλακτος (λευκοκύτταρα, αυξητικοί παράγοντες, IgA, λακτοφερρίνη, ολιγοσακχαρίτες)	Μεταβολές στο μικροβίωμα
Πρόληψη ατροφίας λαχνών και απόπτωσης	Μεταβολές στην αιματική ροή
Διέγερση της περίστασης	Υπεροσμωτικό stress
Προαγωγή της βακτηριακής αποικιοποίησης από κοινά βακτήρια	Πρωτεΐνες γάλακτος αγελάδας
Τροποποίηση των ανοσοαποκρίσεων του ξενιστή	Διέγερση προφλεγμονωδών διεργασιών

Πίνακας 4. Μηχανισμοί που παρέχουν προστασία ή αυξάνουν τον κίνδυνο NEC. Ανατύπωση από: Michael S. Caplan. Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants is Related to Enteral Feeding, But the Mechanisms Remain Uncertain and Have Changed Over Time. Curr Pediatr Rep (2014) 2:241–247.

Τα περισσότερα πρόωρα ή VLBW νεογνά που ανέπτυξαν NEC έλαβαν εντερική σίτιση. Ο χρόνος εισαγωγής της εντερικής τροφής μπορεί επίσης να αποτελέσει σημαντικό τροποποιημένο παράγοντα κινδύνου για NEC. Δεδομένα από μελέτες παρατήρησης υποδεικνύουν ότι οι στρατηγικές διατροφής που περιλαμβάνουν την καθυστέρηση της εισαγωγής εντερικής σίτισης για 5-7 ημέρες μετά τη γέννηση, μειώνουν τον κίνδυνο NEC σε πολύ πρόωρα ή VLBW νεογνά. Η εντερική νηστεία όμως από την άλλη πλευρά, παρουσιάζει δυνητικά μειονεκτήματα. Η έκκριση των ορμονών του γαστρεντερικού και η κινητικότητά του διεγείρονται από το γάλα, η καθυστερημένη εντερική σίτιση θα μπορούσε να μειώσει τη λειτουργική προσαρμογή του ανώριμου γαστρεντερικού σωλήνα. Η μειωμένη κινητικότητα μπορεί να επιδεινώσει τη δυσανεξία στην τροφή, ενώ η νηστεία οδηγεί σε ατροφία των εντερικών κυττάρων και συμβάλλει στην βακτηριακή υπερανάπτυξη, τη βακτηριακή μετατόπιση και τη σήψη που οδηγεί σε καθυστέρηση στην έναρξη της εντερικής διατροφής ανεξάρτητης από την παρεντερική. Η εντερική νηστεία μπορεί επίσης να προκαλέσει υπερχολερυθριναιμία μέσω αύξησης του εντεροηπατικού κύκλου και καθυστέρησης της ωρίμανσης των ηπατικών ενζύμων. Επίσης, η παράταση της διάρκειας χρήσης της παρεντερικής διατροφής μπορεί να σχετίζεται με μολυσματικές και μεταβολικές επιπλοκές που έχουν αρνητικές συνέπειες για

την επιβίωση, τη διάρκεια της νοσηλείας και την ανάπτυξη. Αποτελεί όμως η πρόωμη σίτιση παράγοντα κινδύνου; Κατά την μεταανάλυση δεδομένων (2013) από 9 μελέτες και 754 συμμετέχοντα νεογνά από Ευρώπη και Βόρεια Αμερική, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση της πρόωμης σίτισης στη συχνότητα εμφάνισης NEC. (RR 1,07).^[149] Σε παρόμοια μεταανάλυση (2014) 9 μελετών και 1106 νεογνών επίσης δεν προκαλεί στατιστικά σημαντική επίδραση στην επίπτωση της NEC η καθυστερημένη έναρξη της εντερικής σίτισης μετά την 4^η ημέρα. (RR 0.92), καθώς και τα βρέφη που είχαν καθυστερήσει την έναρξη εντερικής σίτισης χρειάστηκαν περισσότερο χρόνο για να φτάσουν στην πλήρη εντερική σίτιση.^[150]

Στοιχεία από την Ελλάδα υπάρχουν από τη NICU του νοσοκομείου Παπαγεωργίου Θεσσαλονίκης. Σύμφωνα με τα δημοσιευμένα αποτελέσματα μελέτης (2010), στην οποία συμμετείχαν 81 νεογνά, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά επίπτωσης NEC στην ομάδα με πρόωμη έναρξη σίτισης (<5 ημερών) σε σύγκριση με την ομάδα με όψιμη (>5ημερών).^[151]

Πριν από 30 έτη ξεκίνησαν στη Μ. Βρετανία οι 3 μελέτες EPOCH που μεταξύ άλλων αξιολόγησαν και την επίπτωση της NEC καθώς και τους θανάτους από αυτή. Βάσει αυτών των μελετών, αξιολογήθηκε η επίπτωση της NEC σε βρέφη που έλαβαν σίτιση στις 33 ώρες κατά μέσο όρο μετά τη γέννηση (EPOCH I) και σε αυτά που έλαβαν σίτιση στις 14 ώρες κατά μέσο όρο (EPOCH II). Δεν υπήρξε καμία διαφορά μεταξύ των 2 EPOCH, ωστόσο, οι θάνατοι ήταν σημαντικά υψηλότεροι στην EPOCH I λόγω της κεντρικής γραμμής και των λοιμώξεων. Η απουσία αύξησης της συχνότητας εμφάνισης NEC ή θανάτου στην ομάδα των βρεφών που είχαν σιτιστεί νωρίτερα, υποδεικνύει ότι η πρόωμη σίτιση είναι ασφαλής. Οι συγγραφείς της έρευνας προτείνουν ότι η έναρξη της τροφής στις πρώτες 24 ώρες μπορεί να είναι προστατευτική, διότι όταν ελέγχονται για την ηλικία κύησης, το βάρος γέννησης, το φύλο και τη φυλή, τα βρέφη που λαμβάνουν σίτιση κατά τις πρώτες 24 ώρες εμφάνισαν σημαντικά λιγότερη NEC ή θάνατο. Σημαντικό παράμετρο αποτελεί και το γεγονός της ευρύτερης χρήσης ανθρώπινου γάλακτος έναντι formula στην EPOCH II.^[152] Ανάλογα αποτελέσματα εμφανίζονται και σε άλλη παρόμοια δημοσίευση.^[147]

Η εντερική σίτιση που περιείχε τουλάχιστον 50% ανθρώπινο γάλα κατά τις πρώτες 14 ημέρες της ζωής συσχετίστηκε με 6 φορές μειωμένο κίνδυνο για NEC μετά την προσαρμογή αναλόγως της ηλικίας κύησης ή του βάρους γέννησης.^[153]

Σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της ASPEN, προτείνεται η ελάχιστη εντερική σίτιση να ξεκινά τις δύο πρώτες ημέρες της ζωής και να αυξηθεί στα 30 mL/kg/d σε βρέφη ≥ 1000 g.^[146]

Στον αντίποδα, παλαιότερες κυρίως δημοσιεύσεις ισχυρίζονται πως η πρόωμη έναρξη σίτισης δρα αρνητικά. Πριν περίπου 40 έτη (1977-1979) ερευνήθηκε η επίδραση της πρόωμης σίτισης στην παθογένεια της NEC. Οι συγγραφείς έδειξαν ότι είναι επιβλαβής η πρόωμη εντερική σίτιση και

μάλιστα θεωρούσαν ότι είναι ασφαλέστερη η παρεντερική διατροφή και απέτρεπαν την εντερική σίτιση VLBW βρέφη κατά τις πρώτες 2-3 εβδομάδες της ζωής.^[154]

4.2.3. Αύξηση της σίτισης.

Λόγω των αρχικών ανησυχιών ότι η NEC μπορεί να σχετίζεται με την ταχεία πρόοδο της εντερικής σίτισης, πολλοί κλινικοί στο παρελθόν είχαν καθυστερήσει την έναρξη και επιβράδυναν το ρυθμό προόδου της εντερικής σίτισης.^[139]

Η εντερική σίτιση προχωράει συχνά μετά από 3-7 ημέρες ανοχής στην ελάχιστη εντερική σίτιση. Ο όγκος και ο ρυθμός που χρησιμοποιούνται για την προώθηση από την ελάχιστη εντερική σίτιση σε πλήρη, ποικίλλουν μεταξύ των μονάδων και συνήθως εξαρτώνται από το βάρος γέννησης και την έκταση της καρδιοαναπνευστικής υποστήριξης. Συνολικά 3753 βρέφη συμμετείχαν στις δοκιμές που συμπεριλήφθηκαν κατά τη μεταανάλυση δεδομένων. Σχεδόν το 75% του συνολικού αριθμού των βρεφών συμμετείχαν σε μια πρόσφατη μεγάλη πολυκεντρική μελέτη (2016) από κέντρα νεογνικής φροντίδας στη Βόρεια Αμερική, Ινδία, Τουρκία, Νότια Αφρική, το Ηνωμένο Βασίλειο και την Ιρλανδία. Και στις 10 μελέτες έγινε σύγκριση βραδείας (15-24 ml/Kg/ημέρα) και ταχείας αύξησης της σίτισης (30-40 ml/Kg/ημέρα). Η μεταανάλυση δεν έδειξε επίδραση στον κίνδυνο NEC (τυπική RR 1,07, 95% CI 0,83 έως 1,39). Μπορεί όμως να υπάρξουν έμμεσες επιδράσεις στη νεογνική νοσηρότητα λόγω βραδείας αύξησης βάρους, παράτασης της TPN και κινδύνου μόλυνσης από την κεντρική γραμμή.^[155]

4.2.4. Πρωτόκολλο σίτισης. (Standard feeding protocols)

Η υιοθέτηση ενός τυποποιημένου πρωτοκόλλου εντερικής σίτισης (εικόνα 5) έχει προταθεί ως μια «δυναμικά καλύτερη πρακτική» για βρέφη VLBW. Με την εφαρμογή τυποποιημένων πρωτοκόλλων διατροφής έχει δείχθει βελτίωση των διατροφικών αποτελεσμάτων. Πάνω από 15 χρόνια πριν, η Dr. Shanhiroose Premji δημοσίευσε το πρωτόκολλο διατροφής και την επίδρασή του στα νεογνά. Την περασμένη δεκαετία, πολλές μελέτες βασίστηκαν στο έργο της και επιβεβαίωσαν τη θετική τους επίδραση για την πρόληψη της NEC. Ωστόσο, η υιοθέτηση αυτής της πρακτικής μεταξύ των NICUs στις Η.Π.Α. είναι σχετικά χαμηλή. Το 2005, οι Patole και de Klerk κατέδειξαν σε μια μεταανάλυση 6 μελετών παρατήρησης (n=8849 βρέφη <2500g. n=3762 βρέφη <1500g) κατά προσέγγιση μείωση της NEC έως 85% εφόσον τηρείται πρωτόκολλο.

Στην ανάλυση της υποομάδας VLBW σε τρεις μελέτες από το 2000 έως το

	<750 g	751–1000 g	1001–1250 g	1251–1500 g	1501–2000 g
Goal: Full feeds (120 kcal/150 mL/kg/d)	14–16 d	12–14 d	10–12 d	7 d	5–7 d; some infants may advance quicker
Colostrum	Consider using for oral care before starting feedings, especially in <1500-g group				
Timing of first feeding	DOL 2–3			DOL 2	DOL 1–2
Criteria to start feedings ²⁸	Mean airway pressure <10 cm, continuous positive airway pressure <6 cm, supplemental oxygen ≤30%, no PDA requiring indomethacin or surgery, no sepsis. If sepsis is present, it must be treated with 48 h of antibiotics without respiratory or hemodynamic instability.				
Start	0.5 mL every 3 h	1–2 mL every 3 h for 24–48 h	2–3 mL every 3 h	3 mL/feed every 3 h	3–5 mL/feed every 3 h
Advance	Advance by 0.5 mL every 24 h to attain 20 mL/kg/d by day 5 to 6 of life. Once tolerating 20 mL/kg/d, advance by 0.5 mL per feed every 12 h	After 24–48 h, advance by 1 mL per feed every 12 h	After 24–48 h, advance by 2 mL per feed every 12 h	1 mL every other feed	2 mL every other feed
Add fortifier	Begin no earlier than when tolerating 100 mL/kg/d by mixing 1 packet per 50 mL of human milk and then advancing to 1 packet per 25 mL of human milk when tolerating well. If formula fed, increase to 24 calorie special care formula when tolerating 100 mL/kg/d.				
Hold feedings ²⁴	Stop feedings if feed intolerance present, restart after 24 h without evidence of feeding intolerance. Defined intolerance as residual volume > 30%, bilious gastric aspirate, abnormal abdominal examination. Hold feedings for sepsis until 48 h of antibiotic therapy, blood pressure is stable without hemodynamic support, and respiratory status returns to baseline. Patent ductus arteriosus: 24 h nothing by mouth following medical or surgical closure.				
<i>Abbreviations: DOL, day of live; PDA, patent ductus arteriosus.</i>					
<i>^aSynthesized from Patole³⁰, Hanson et al³⁹, Ehrenkranz²⁸, Kuzma-O'Reilly et al³⁵, and Smith.³⁷ The protocol has not been tested explicitly in this format.</i>					

2003, η επίπτωση της NEC μειώθηκε κατά 29%. Επίσης σε μεταγενέστερη ανάλυση από τους McCallie et al, τα ποσοστά NEC μειώθηκαν σημαντικά μετά την εφαρμογή ενός τυποποιημένου πρωτοκόλλου σίτισης τόσο στην ομάδα VLBW (18% πριν 3% μετά), καθώς και στην ομάδα ELBW από 35% σε 8%.^[156,157]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5°.

5.1. Συμπεράσματα.

Παρά τη βελτίωση του ορίου βιωσιμότητας και τον αυξανόμενο αριθμό πρόωρων γενήσεων, η νεκρωτική εντεροκολίτιδα παραμένει σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνητότητας με τα καταγεγραμμένα περιστατικά ετησίως να εμφανίζουν αύξηση. Η θνητότητα συνεχίζει να παραμένει σε υψηλά επίπεδα, όπως και οι επιπλοκές (π.χ. σύνδρομο βραχέος εντέρου, νευροαναπτυξιακές διαταραχές) καθιστώντας το πρόβλημα πολυδιάστατο. Αν και ως νοσολογική οντότητα είναι γνωστή τουλάχιστο 60 έτη και το ενδιαφέρον των ερευνητών παραμένει αμείωτο, η αιτιολογία της νόσου παραμένει αίνιγμα. Με τα σημερινά δεδομένα, η NEC θεωρείται ότι είναι συνδυασμός πολλών παραγόντων, όπως περιβαλλοντικοί, γενετικοί και ανοσολογικοί. Η προωρότητα είναι η καθοριστική αιτία, αφού στο 90% των περιπτώσεων αφορά πρόωρα νεογνά, ιδιαίτερα αυτά με χαμηλό βάρος γέννησης (<1500g). Με την προωρότητα ως μια βασική αιτία που συνεπάγεται ισχαιμία, ατελή βλεννογονικό φραγμό, διαταραχές του μικροβιώματος και αποίκιση από παθογόνα, μειωμένη κινητικότητα του γαστρεντερικού και ανεπάρκεια των αμυντικών μηχανισμών, δημιουργούνται συνθήκες στάσης, βακτηριακής υπερανάπτυξης παθογόνων που οδηγούν σε φλεγμονώδη αντίδραση που και αυτή με τη σειρά της κινητοποιεί πλείστους μεσολαβητές φλεγμονής και τη διαιώνιση της φλεγμονώδους αντίδρασης προκαλώντας ένα φαύλο κύκλο με καταστροφικά αποτελέσματα. Οι μεσολαβητές της φλεγμονής είναι συνήθως σε αυξημένα επίπεδα όπως αποδεικνύεται από μελέτες στον άνθρωπο, αλλά και από μελέτες πειραματικής κολίτιδας σε ζωικά μοντέλα.

Ο ρόλος της σίτισης αποτελεί ιδιαίτερο πεδίο έρευνας. Η συνήθης πρακτική στις μονάδες νεογνών είναι, αρχικά, η έγχυση παρεντερικών διαλυμάτων από τα ήδη καθετηριασμένα ομφαλικά αγγεία. Η έγχυση όμως δεν μπορεί να συνεχιστεί επ' αόριστο λόγω του κινδύνου λοιμώξεων συνήθως από ενδονοσοκομειακά μικρόβια. Επιπλέον, η παρατεταμένη ολική παρεντερική διατροφή κρύβει επιπλέον κινδύνους για την ήδη επιβαρυνόμενη κατάσταση ενός πρόωρου νεογνού με επιπλοκές όπως στεάτωση ήπατος, υπερχολερυθριναιμία και αναστολή της ανάπτυξης του εντέρου λόγω παντελούς έλλειψης τροφικών παραγόντων. Ο ακρογωνιαίος λίθος για τη σίτιση ενός πρόωρου ή μη νεογνού είναι ο μητρικός θηλασμός και η χορήγηση μητρικού γάλακτος. Είναι γνωστό από πολλά έτη ότι το μητρικό γάλα μπορεί να αποτρέψει τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα στα πρόωρα. Το ανθρώπινο γάλα είναι φορέας πολύτιμων μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών καθώς και τροφικών παραγόντων. Επίσης είναι φορέας βιοδραστικών ουσιών που δρουν έναντι παθογόνων, έχουν ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες και ορισμένες λειτουργούν ως αυξητικοί παράγοντες προάγοντας στην επούλωση βλαβών μετά από stress. Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν εισαχθεί στο εμπόριο ενισχυτικοί παράγοντες που προστίθενται στο ανθρώπινο γάλα σε μορφή αρχικά σκόνης και μετέπειτα σε

υγροποιημένη μορφή, σε περιπτώσεις μη ανταπόκρισης του γάλακτος της μητέρας στις διατροφικές ανάγκες του βρέφους. Εναλλακτικά, αντί για ανθρώπινο γάλα, υπάρχουν διαθέσιμα στο εμπόριο προτυποποιημένα σκευάσματα (formulas) ειδικά σχεδιασμένα για τις διατροφικές ανάγκες ενός προώρου. Το ερώτημα που τίθεται είναι ποιο γάλα είναι το ιδανικό για αυτές τις ανάγκες. Ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1980, αποδεικνύεται η σαφής υπεροχή του μητρικού γάλακτος έναντι των formulas (Lucas 1990). Η απάντηση λοιπόν είναι σαφής καθώς οι περισσότερες μελέτες δείχνουν τη σαφέστατη υπεροχή του ανθρώπινου γάλακτος (μητέρας ή δότριας), τόσο για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών, όσο και για την πρόληψη της NEC.

Το επόμενο ερώτημα που έπρεπε να απαντηθεί ήταν αν η πρόωμη εντερική σίτιση λειτουργεί προστατευτικά έναντι της NEC ή προκαλεί καταστροφικά αποτελέσματα. Αρχικά, δεδομένου ότι τα περισσότερα νεογνά είχαν λάβει εντερική σίτιση, είχε θεωρηθεί ως επιβαρυντικός παράγοντας και τα αποτελέσματα των μελετών ήταν αντικρουόμενα. Τα τελευταία χρόνια οι περισσότερες έρευνες συμφωνούν πως η πρόωμη εντερική σίτιση (<4 ημερών) δεν αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση NEC και μάλιστα σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της ASPEN, προτείνεται η ελάχιστη εντερική σίτιση να ξεκινά τις δύο πρώτες ημέρες της ζωής και να αυξάνεται σταδιακά στα 30 mL/kg/d σε βρέφη ≥ 1000 g. Τα τελευταία χρόνια προτείνεται και η χρήση πρωτοκόλλου σίτισης πρόωρων νεογνών, η χρήση του οποίου φαίνεται ότι μειώνει σε ικανό βαθμό την εμφάνιση περιστατικών NEC.

Κλείνοντας, και διατυπώνοντας μια άποψη που απορρέει και από προσωπική εμπειρία, η χρήση ανθρώπινου γάλακτος είναι ζωτικής σημασίας τόσο για την πρόληψη επιπλοκών όπως η NEC, αλλά γενικότερα για τη σωστή ανάπτυξη ενός προώρου νεογνού.

Βιβλιογραφία.

1. Gregory KE, Deforge CE, Natale KM et al. Necrotizing Enterocolitis in the Premature Infant Neonatal Nursing Assessment, Disease Pathogenesis, and Clinical Presentation. *Adv Neonatal Care*. 2011 Jun;11(3):155-64.
2. Henry MC, Moss RL. Neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg*. 2008 May;17(2):98-109.
3. Reid BM, Thompson-Branch A. Necrotizing Enterocolitis: A Narrative Review of Updated Therapeutic and Preventive Interventions. *J Pediatr Rev*. 2016 4(2): e6093.
4. Neu J, Walker WA. Necrotizing Enterocolitis. *N Engl J Med*. 2011 Jan 20;364(3):255-64
5. Huda S, Chaudhery S, Ibrahim H3, Pramanik A Neonatal necrotizing enterocolitis: Clinical challenges, pathophysiology and management. *Pathophysiology*. 2014 Feb;21(1):3-12.
6. Terrin G, Scipione A, De Curtis M. Update in Pathogenesis and Prospective in Treatment of Necrotizing Enterocolitis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:543765
7. Obladen M. Necrotizing Enterocolitis – 150 Years of Fruitless Search for the Cause. *Neonatology* 2009;96(4):203–210.
8. Abraham Mizrahi MD, Olive Barlow MD, Walter Berdon MD, et al. Necrotizing enterocolitis in premature infants. *J Pediatr*. 1965 Apr;66:697-705.
9. Agerty HA., Ziserman AJ, Hollenberger CL A case of perforation of the ileum in a newborn infant with operation and recovery. *J. Pediatr*. 1943;22:233.
10. RJ Touloukian, WE. Berdon, RA Amoury, TV Santuli. Surgical Experience With Necrotizing Enterocolitis in the Infant. *Journal of pediatric surgery*. 1967 2(5): 389-401
11. [No authors listed]. Neonatal necrotizing enterocolitis. *Br Med J*. 1970 18;3(5715):121-2.
12. Elvira Parravicini and Federica Fromm. G. Buonocore et al. (eds.). *Necrotizing Enterocolitis. Neonatology. A Practical Approach to Neonatal Diseases*. p.724-730. Springer-Verlag Italia 2012.
13. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD et al. Neonatal Necrotizing Enterocolitis. Therapeutic Decisions Based upon Clinical Staging. *Ann Surg*. 1978 187(1): 1–7.
14. Kliegman RM, Walsh MC. Neonatal necrotizing enterocolitis: pathogenesis, classification, and spectrum of illness. *Curr Probl Pediatr*. 1987 17(4):213-88.
15. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*. 2012 Jun 9;379(9832):2162-72.

16. Beck S, Wojdyla D, Say L et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010 Jan; 88(1): 31–38
17. Glass HC, Costarino AT, Stayer SA et al. Outcomes for Extremely Premature Infants. *Anesth Analg.* 2015 120(6): 1337–1351.
18. Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL, Carlo WA et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Feb;196(2):147.e1-8.
19. Hull MA, Fisher JG, Gutierrez IM et al. Mortality and Management of Surgical Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Neonates: A Prospective Cohort Study. *J Am Coll Surg.* 2014 Jun;218(6):1148-55
20. Wilson R, Kanto WP Jr, McCarthy BJ. Epidemiologic characteristics of necrotizing enterocolitis: a population-based study. *Am J Epidemiol.* 1981 Dec;114(6):880-7.
21. Palmer SR1, Biffin A, Gamsu HR. Outcome of neonatal necrotising enterocolitis: results of the BAPM/CDSC surveillance study, 1981-84. *Arch Dis Child.* 1989 Mar;64(3):388-94.
22. Stey A, Barnert ES, Tseng CH et al. Outcomes and Costs of Surgical Treatments of Necrotizing Enterocolitis. *Pediatrics,* May 2015, 135; (5), e1190-7.
23. Fitzgibbons SC, Ching Y, Yu D, Carpenter J et al. Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories. *J Pediatr Surg.* 2009 Jun;44(6):1072-6
24. Sankaran K, Puckett B, Lee DS et al. Variations in Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Canadian Neonatal Intensive Care Units. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004 Oct;39(4):366-72.
25. Berrington JE, Hearn RI, Bythell M, et al. Deaths in Preterm Infants: Changing Pathology Over 2 Decades. *J Pediatr* 2012;160:49-53
26. Rees CM, Eaton S, Pierro A. National prospective surveillance study of necrotizing enterocolitis in neonatal intensive care units. *J Pediatr Surg.* 2010 Jul;45(7):1391-7
27. Zhang Y, Ortega G, Camp M et al. Necrotizing enterocolitis requiring surgery: outcomes by intestinal location of disease in 4371 infants. *J Pediatr Surg.* 2011 Aug;46(8):1475-81
28. Sharma R, Hudak ML. A clinical perspective of necrotizing enterocolitis: past, present, and future.. *Clin Perinatol.* 2013 Mar;40(1):27-51.
29. Sharma, ML Hudak, JJ Tepas III. et al. Impact of gestational age on the clinical presentation and surgical outcome of necrotizing enterocolitis. *J Perinatol.* 2006 Jun;26(6):342-7.
30. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis *Lancet.* 2006 Oct 7;368(9543):1271-83.
31. Α. Μπιλάλη, Χ. Μπαρτσόκας, Ε. Βελονάκης. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα και πρόωρα νεογνά. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2012, 29(3):290-310

32. Kenton AB, O'Donovan D, Cass DL et al. Severe Thrombocytopenia Predicts Outcome in Neonates with Necrotizing Enterocolitis. *J Perinatol*. 2005 Jan;25(1):14-20.
33. Ververidis M, Kiely EM, Spitz L et al. The clinical significance of thrombocytopenia in neonates with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg*. 2001 May;36(5):799-803
34. Esposito F, Mamone R, Di Serafino M et al. Diagnostic imaging features of necrotizing enterocolitis: a narrative review. *Quant Imaging Med Surg* 2017;7(3):336-344.
35. Gordon P, Christensen R, Weitkamp JH, Maheshwari A. Mapping the New World of Necrotizing Enterocolitis (NEC):. Review and Opinion. *EJ Neonatol Res.*; 2(4): 145–172
36. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, Kliegman RM. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: A ten-year experience. *J Pediatr*. 1990 Jul;117(1 Pt 2):S6-13.
37. Berman L, Moss RL. Necrotizing enterocolitis: An update. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2011 Jun;16(3):145-50
38. Sylvester KG, Kastenber ZJ, Moss RL et al. Acylcarnitine Profiles Reflect Metabolic Vulnerability for Necrotizing Enterocolitis in Newborns Born Premature. *J Pediatr* 2017;181:80-5.
39. Kasivajjula H, Maheshwari A. Pathophysiology and Current Management of Necrotizing Enterocolitis. *Indian J Pediatr* (May 2014) 81(5):489–497.
40. Szebeni B1, Szekeres R, Rusai K Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006 Jan;42(1):27-31.
41. Sampath V1, Le M, Lane L, et al. The NFKB1 (g.-24519delATTG) variant is associated with necrotizing enterocolitis (NEC) in premature infants. *J Surg Res*. 2011;169:e51–e57
42. Lim JC, Golden JM, Ford HR. Pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int* (2015) 31:509–518
43. Watkins DJ, Besner GE. The Role of the Intestinal Microcirculation in Necrotizing Enterocolitis. *Semin Pediatr Surg*. 2013 May; 22(2): 83–87
44. Chokshi NK, Guner YS, Hunter CJ, The Role of Nitric Oxide in Intestinal Epithelial Injury and Restitution in Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Semin Perinatol*. 2008 Apr;32(2):92-9.
45. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2007 Jan; 87(1): 315–424.
46. Amin SC, Remon JI, Subbarao GC, Maheshwari A. Association between Red Cell Transfusions and Necrotizing Enterocolitis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Oct; 25(0 5): 85–89.
47. Patel RM, Knezevic A, Shenvi N, et al. Association of Red Blood Cell Transfusion, Anemia, and Necrotizing Enterocolitis in Very Low-Birth-Weight Infants. *JAMA*. 2016 Mar 1; 315(9): 889–897.

- 48.** Leake RD, Thanopoulos B, Nieberg R. Hyperviscosity syndrome associated with necrotizing enterocolitis (Abstract). *Am J Dis Child*. 1975 Oct;129(10):1192-4
- 49.** Hakanson DO, Oh W. Necrotizing enterocolitis and hyperviscosity in the newborn infant (Abstract). *J Pediatr*. 1977 Mar;90(3):458-61.
- 50.** Lin HY, Chang JH, Chung MY, Lin HC. Prevention of necrotizing enterocolitis in preterm very low birth weight infants: is it feasible? *J Formos Med Assoc*. 2014 Aug;113(8):490-7
- 51.** Roberts D, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth (Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Jul 19;(3):CD004454. (no change to conclusions), comment added to review, published in Issue 3, 2013
- 52.** Amin SB, Sinkin RA, Glantz JC. Metaanalysis of the effect of antenatal indomethacin on neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Nov;197(5):486.e1-10
- 53.** Hammers AL, Sanchez-Ramos L, Kaunitz AM. Antenatal exposure to indomethacin increases the risk of severe intraventricular hemorrhage, necrotizing enterocolitis, and periventricular leukomalacia: a systematic review with metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Apr;212(4):505.e1-13
- 54.** Lin PW, Nasr TR, Stoll BJ. Necrotizing Enterocolitis: Recent Scientific Advances in Pathophysiology and Prevention. *Semin Perinatol* (2008) 32:70-82.
- 55.** Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and liver diseases, pathophysiology, diagnosis, management, 10th edition (2015), volume 1, p.20.
- 56.** Hodzic Z, Bolock AM, Good M. The Role of Mucosal immunity in the Pathogenesis of Necrotizing enterocolitis. *Front Pediatr*. 2017 Mar 3;5:40
- 57.** Tanner SM, Berryhill TF, Ellenburg JL, et al. Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis Modeling the Innate Immune Response. *Am J Pathol*. 2015 Jan;185(1):4-16
- 58.** Underwood MA. Paneth cells and necrotizing enterocolitis. *Gut Microbes*. 2012 Nov-Dec;3(6):562-5
- 59.** Shale M, Schiering C, Powrie F. CD4+ T-cell subsets in intestinal inflammation. *Immunol Rev*. 2013 Mar; 252(1): 164–182.
- 60.** Hooper. LV. Epithelial Cell Contributions to Intestinal Immunity. *Adv Immunol*. 2015;126:129-72.
- 61.** Denning TL, Bhatia AM, Kane AF et al. Pathogenesis of NEC: Role of the innate and adaptive immune response. *Semin Perinatol*. 2017 Feb;41(1):15-28.
- 62.** Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol*. 2016; 16: 86.

- 63.** Elgin TG, Kern SL, McElroy SJ. Development of the Neonatal Intestinal Microbiome and Its Association With Necrotizing Enterocolitis. *Clin Ther.* 2016 Apr;38(4):706-15.
- 64.** Warner BB, Deych E, Zhou Y, et al. Gut bacteria dysbiosis and necrotising enterocolitis in very low birth weight infants: a prospective case-control study. *Lancet* 2016; 387:1928.
- 65.** Pammi M, Cope J, Tarr PI et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome.* 2017 Mar 9;5(1):31.
- 66.** Kuppala VS, Meinen-Derr J, Morrow AL, Schibler KR. Prolonged Initial Empirical Antibiotic Treatment is Associated with Adverse Outcomes in Premature Infants. *J Pediatr.* 2011 Nov; 159(5): 720–725.
- 67.** Alexander VN, Northrup V, Bizzarro MJ. Antibiotic Exposure in the Newborn Intensive Care Unit and the Risk of Necrotizing Enterocolitis. *J Pediatr.* 2011 Sep;159(3):392-7.
- 68.** Cotten CM, Taylor S, Stoll B Prolonged Duration of Initial Empirical Antibiotic Treatment Is Associated With Increased Rates of Necrotizing Enterocolitis and Death for Extremely Low Birth Weight Infants. *Pediatrics.* 2009 Jan; 123(1): 58–66.
- 69.** Chong E, Reynold J, Shaw J, et al. Results of a two Center, before and after study of piperacillin-tazobactam versus ampicillin and gentamicin as therapy for suspected sepsis at birth in neonates less than 1500 grams. *J Perinatol.* 2013 Jul;33(7):529-32
- 70.** Afrazi A, Sodhi CP, Richardson W New Insights into the Pathogenesis and Treatment of Necrotizing Enterocolitis: Toll-like Receptors and Beyond. *Pediatr Res.* 2011 Mar; 69(3): 183–188.
- 71.** Cho SX, Berger PJ, Nold-Petry CA, Nold MF. The immunological landscape in necrotising enterocolitis. *Expert Rev Mol Med.* 2016; 18: e12.
- 72.** Reuven EM1, Fink A1, Shai Y2. Regulation of innate immune responses by transmembrane interactions: Lessons from the TLR family. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Jun;1838(6):1586-93
- 73.** Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science.* 2010 Jan 15; 327(5963): 291–295.
- 74.** Siggers RH, Hackam DJ. The role of innate immune-stimulated epithelial apoptosis during gastrointestinal inflammatory diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2011 Nov;68(22):3623-34.
- 75.** Hackam DJ, Afrazi A, Good M, Sodhi CP. Innate Immune Signaling in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013: 475415.
- 76.** Glaser K, Speer CP. Toll-like receptor signaling in neonatal sepsis and inflammation: a matter of orchestration and conditioning. (Abstract) *Expert Rev Clin Immunol* 2013;9:1239–52

77. Gribar SC, Sodhi CP, Richardson WM, Reciprocal Expression and Signaling of TLR4 and TLR9 in the Pathogenesis and Treatment of Necrotizing Enterocolitis. *J Immunol.* 2009 Jan 1; 182(1): 636–646.
78. Dinarello CA, Simon A, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2012 Aug;11(8):633-52.
79. Weitkamp JH1, Koyama T, Rock MT et al. Necrotising enterocolitis is characterised by disrupted immune regulation and diminished mucosal regulatory (FOXP3)/effector (CD4, CD8) T cell ratios. *Gut.* 2013 Jan;62(1):73-82.
80. Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ. Circulating pro- and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis. *Pediatrics.* 1999 Apr;103(4 Pt 1):766-71.
81. Murgas Torrazza R, Li N, Young C, Kobeissy F et al. Pilot study using proteomics to identify predictive biomarkers of necrotizing enterocolitis from buccal swabs in very low birth weight infants. *Neonatology.* 2013;104(3):234-42.
82. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2014 Aug;25(4):453-72.
83. Markel TA, Crisostomo PR, Wairiuko GM et al. Cytokines in necrotizing enterocolitis. *Shock.* 2006 Apr;25(4):329-37.
84. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends. Trends Cell Biol.* 2001 Sep;11(9):372-7.
85. Ebach DR, Riehl TE, Stenson WF. Opposing effects of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 in sepsis due to cecal ligation and puncture. *Shock.* 2005;23:311–318.
86. Tanaka T, Kishimoto T. The biology and medical implications of interleukin-6. *Cancer Immunol Res.* 2014 Apr;2(4):288-94.
87. Goepfert AR1, Andrews WW, Carlo W et al. Umbilical cord plasma interleukin-6 concentrations in preterm infants and risk of neonatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:1375–1381
88. Martin CR, Walker WA. Intestinal immune defences and the inflammatory response in necrotising enterocolitis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006;11:369–377
89. Franklin AL, Said M2, Cappiello CD et al. Are immune modulating single nucleotide polymorphisms associated with necrotizing enterocolitis? *Sci Rep.* 2015 Dec 16;5:18369.
90. Claud EC, Savidge T, Walker WA. Modulation of Human Intestinal Epithelial Cell IL-8 Secretion by Human Milk Factors. *Pediatr Res.* 2003 Mar;53(3):419-25.
91. Schnabl KL, Van Aerde JE, Thomson AB, Clandinin MT. Necrotizing enterocolitis: A multifactorial disease with no cure. *World J Gastroenterol.* 2008 Apr 14; 14(14): 2142–2161.

- 92.** Emami CN1, Chokshi N, Wang J et al. Role of interleukin-10 in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Am J Surg.* 2012 Apr; 203(4): 428–435.
- 93.** Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 Years of NF- κ B: A Blossoming of Relevance to Human Pathobiology. *Cell.* 2017 Jan 12;168(1-2):37-57
- 94.** De Plaen IG. Inflammatory signaling in necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol.* 2013 Mar; 40(1): 109–124.
- 95.** Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Adv Immunol.* 2007;96:41-101.
- 96.** Basha S, Surendran N, Pichichero M. Immune responses in neonates. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014 Sep;10(9):1171-84.
- 97.** Benkoe T, Baumann S, Weninger M et al. Comprehensive evaluation of 11 cytokines in premature infants with surgical necrotizing enterocolitis. *PLoS One.* 2013;8(3):e58720.
- 98.** Abdelhamid AE, Chuang SL, Hayes P, Fell JM. In vitro cow's milk protein-specific inflammatory and regulatory cytokine responses in preterm infants with necrotizing enterocolitis and sepsis. *Pediatr Res.* 2011 Feb;69(2):165-9.
- 99.** Halpern MD1, Holubec H, Dominguez JA et al. Up-regulation of IL-18 and IL-12 in the ileum of neonatal rats with necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res.* 2002 Jun;51(6):733-9.
- 100.** Kang BY, Kim E, Kim TS. Regulatory mechanisms and their therapeutic implications of interleukin-12 production in immune cells. *Cell Signal.* 2005;17:665–673
- 101.** Travis MA, Sheppard D. TGF-beta activation and function in immunity. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:51-82.
- 102.** Maheshwari A, Kelly DR, Nicola T et al. TGF-beta2 suppresses macrophage cytokine production and mucosal inflammatory responses in the developing intestine. *Gastroenterology.* 2011 Jan;140(1):242-53
- 103.** Rautava S, Lu L, Nanthakumar NN, Dubert-Ferrandon A, Walker WA. TGF- β 2 induces maturation of immature human intestinal epithelial cells and inhibits inflammatory cytokine responses induced via the NF- κ B pathway. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012 May; 54(5): 630–638.
- 104.** Tudehope DI, Page D, Gilroy M. Infant formulas for preterm infants: In hospital and post discharge. *J Paediatr Child Health.* 2012 Sep;48(9):768-76
- 105.** Ruiz L1, Espinosa-Martos II,2, García-Carral C et al. What's Normal? Immune Profiling of Human Milk from Healthy Women Living in Different Geographical and Socioeconomic Settings. *Front Immunol.* 2017 Jun 30;8:696.
- 106.** de Halleux V, Pieltain C, Senterre T, Rigo J. Use of donor milk in the neonatal intensive care unit. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2017 Feb;22(1):23-29.

- 107.** Dill R, Walker AM. Role of Prolactin in Promotion of Immune Cell Migration into the Mammary Gland. *Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2017 March; 22(1): 13–26.
- 108.** Sousa SG, Delgadillo I, Saraiva JA. Human Milk Composition and Preservation: Evaluation of High-pressure Processing as a Nonthermal Pasteurization Technology. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016;56(6):1043-60.
- 109.** Carter AH, Richmond HD. Some observations on the composition of human milk. *Br Med J*. 1898 Jan 22;1(1934):199-203.
- 110.** Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am*. 2013 Feb; 60(1): 49–74.
- 111.** Neville MC, Anderson SM, McManaman JL et al. Lactation and Neonatal Nutrition: Defining and Refining the Critical Questions. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2012 Jun; 17(2): 167–188
- 112.** Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev*. 2015 Nov;91(11):629-35.
- 113.** Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr*. 2003 Jun;77(6):1537S-1543S
- 114.** Ellison RT, Giehl TJ. Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J Clin Invest*. 1991 Oct;88(4):1080-91.
- 115.** Barbana C, Sánchez L, Pérez MD. Bioactivity of α -lactalbumin related to its interaction with fatty acids: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2011 Sep;51(8):783-94
- 116.** Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H et al. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev*. 2001 Nov;65 Suppl:S3-S18.
- 117.** Koletzko B. Human Milk Lipids. *Ann Nutr Metab* 2016;69(suppl 2):28-40
- 118.** Martin CR, Ling PR, Blackburn GL. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*. 2016 May; 8(5): 279.
- 119.** Cartocci V1, Servadio M1, Trezza V1, Pallottini V2. Can Cholesterol Metabolism Modulation Affect Brain Function and Behavior? *J Cell Physiol*. 2017 Feb;232(2):281-286.
- 120.** Walker A. Breast Milk as the Gold Standard for Protective Nutrients. *J Pediatr*. 2010 Feb;156(2 Suppl):S3-7.
- 121.** Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum Dev*. 2015 Nov;91(11):619-22.
- 122.** Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M et al. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J Pediatr*. 2004 Sep;145(3):297-303.
- 123.** He Y, Lawlor NT, Newburg DS. Human Milk Components Modulate Toll-Like Receptor–Mediated Inflammation. *Adv Nutr*. 2016 Jan; 7(1): 102–11

- 124.** Berlutti F, Pantanella F, Natalizi T et al. Antiviral properties of lactoferrin – a natural immunity molecule. *Molecules*. 2011 Aug 16;16(8):6992-7018.
- 125.** Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, et al. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. *Pediatr. Res.* 2003;54(1):15–19.
- 126.** Shiou SR, Yu Y, Chen S et al. Erythropoietin Protects Intestinal Epithelial Barrier Function and Lowers the Incidence of Experimental Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *J Biol Chem*. 2011 Apr 8; 286(14): 12123–32.
- 127.** Chatterton DE, Nguyen DN, Bering SB, Sangild PT. Anti-inflammatory mechanisms of bioactive milk proteins in the intestine of newborns. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 Aug;45(8):1730-47
- 128.** Jakaitis BM, Denning PW. Human Breast Milk and the Gastrointestinal Innate Immune System. *Clin Perinatol*. 2014 Jun; 41(2): 423–435.
- 129.** Cacho NT, Lawrence RM. Innate Immunity and Breast Milk. *Front Immunol*. 2017 May 29;8:584.
- 130.** Hay WW Jr, Hendrickson KC. Preterm formula use in the preterm very low birth weight infant. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017 Feb;22(1):15-22.
- 131.** Green Corkins K, Shurley T.. What’s in the Bottle? A Review of Infant Formulas. *Nutr Clin Pract*. 2016 Dec;31(6):723-729.
- 132.** Kuschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(1):CD000343.
- 133.** Brown JV, Embleton ND, Harding JE, McGuire W. Multi-nutrient fortification of human milk for preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 May 8;(5):CD000343
- 134.** Ziegler EE. Breast-milk fortification. *Acta Paediatr*. 2001 Jul;90(7):720-3.
- 135.** Radmacher PG, Adamkin DH. Fortification of human milk for preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017 Feb;22(1):30-35.
- 136.** Jacobi SK, Odle J. Nutritional Factors Influencing Intestinal Health of the Neonate. *Adv Nutr*. 2012 Sep; 3(5): 687–696.
- 137.** Siggers RH, Siggers J, Thymann T et al. Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates susceptible to necrotizing enterocolitis. *J Nutr Biochem*. 2011 Jun;22(6):511-21.
- 138.** Barlow B, Santulli TV, Heird WC, et al. An experimental study of acute neonatal enterocolitis—the importance of breast milk. *J Pediatr Surg*. 1974 Oct;9(5):587-95.
- 139.** Ramani M, Ambalavanan N. Feeding Practices and NEC. *Clin Perinatol*. 2013 Mar; 40(1): 1–10

- 140.** Henderson G, Anthony MY, McGuire W. Formula milk versus maternal breastmilk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, Issue 4. Art. No.: CD002972.
- 141.** Lucas A, Cole T. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet*. 1990 Dec 22-29;336(8730):1519-23.
- 142.** Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, et al. An Exclusively Human Milk-Based Diet Is Associated with a Lower Rate of Necrotizing Enterocolitis than a Diet of Human Milk and Bovine Milk-Based Products. *J Pediatr*. 2010 Apr;156(4):562-7.
- 143.** Quigley M, McGuire W. Formula versus donor breastmilk for feeding preterm or low birth weight infants (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 4. Art. No.: CD002971.
- 144.** Hair AB, Peluso AM, Hawthorne KM. Beyond Necrotizing Enterocolitis Prevention: Improving Outcomes with an Exclusive Human Milk-Based Diet. *Breastfeed Med*. 2016 Mar;11(2):70-4
- 145.** Kimak KS, de Castro Antunes MM, Braga TD, et al. Influence of Enteral Nutrition on Occurrences of Necrotizing Enterocolitis in Very-Low-Birth-Weight Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015 Oct;61(4):445-50
- 146.** Caplan MS. Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants is Related to Enteral Feeding, But the Mechanisms Remain Uncertain and Have Changed Over Time. *Curr. Pediatr. Rep*. 2014 Dec; 2(4):241–247.
- 147.** Fallon EM, Nehra D, Potemkin AK et al. A.S.P.E.N. Clinical Guidelines: Nutrition Support of Neonatal Patients at Risk for Necrotizing Enterocolitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2012 Sep;36(5):506-23.
- 148.** Brown JVE, Embleton ND, Harding JE, McGuire W. Multi-nutrient fortification of human milk for preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2016, Issue 5. Art. No.: CD000343.
- 149.** Morgan J, Bombell S, McGuire W. Early trophic feeding versus enteral fasting for very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Mar 28;(3):CD000504
- 150.** Morgan J, Young L, McGuire W. Delayed introduction of progressive enteral feeds to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 May 31;(5):CD001970
- 151.** Karagianni P, Briana DD, Mitsiakos G, Elias A, Theodoridis T, Chatziioannidis E, Kyriakidou M, Nikolaidis N. Early versus delayed minimal enteral feeding and risk for necrotizing

enterocolitis in preterm growth-restricted infants with abnormal antenatal Doppler results. (Abstract). *Am J Perinatol.* 2010 May;27(5):367-73

152. Hamilton E, Massey C, Ross J, Taylor S. Early enteral feeding in very low birth weight infants. *Early Hum Dev.* 2014 May;90(5):227-30.

153. Sisk PM, Lovelady CA, Dillard RG et al. Early human milk feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2007 Jul;27(7):428-33.

154. Eyal F, Sagi E, Arad I, Avital A. Necrotising enterocolitis in the very low birthweight infant: expressed breast milk feeding compared with parenteral feeding. *Arch Dis Child.* 1982 Apr;57(4): 274–276

155. Morgan J, Young L, McGuire W. Delayed introduction of progressive enteral feeds to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 12. Art. No.: CD001970.

156. Gephart SM, Hanson CK. Preventing necrotizing enterocolitis with standardized feeding protocols: not only possible, but imperative. *Adv Neonatal Care.* 2013 Feb;13(1):48-54

157. McCallie KR, Lee HC, Mayer O et al. Improved outcomes with a standardized feeding protocol for very low birth weight infants. *J Perinatol.* 2011 Apr;31 Suppl 1:S61-7

Παράρτημα Α.

Διατροφική σύσταση προτυποποιημένου γάλακτος (formula) ανά 100 Kcal.

	Mature Preterm Human Milk (Unfortified)	Enfamil® Premature	Enfamil® Premature 24 Cal High Protein	Similac® Special Care® with Iron	Similac® Special Care® 24 High Protein	Gerber® Good Start® premature	Gerber® Good Start® premature 24 High Protein	Milupa Aptamil® Gold+Preterm	Cow&Gate® Nutriprem 1
Ενέργεια (kcal/oz)	19–21	24	24	24	24	24	24	24	24
Πρωτεΐνες.									
Σύνολο (g)	2.2±0.2	3.3	3.6	3	3.3	3	3.6	3.2	3.3
% συνολικής ενέργειας	8	13	14	12	13	12	14	13 [±]	13 [±]
Πηγή	Ανθρώπινο γάλα	Πρωτεΐνες ορού γάλακτος και άλιπο γάλα	Πρωτεΐνες ορού γάλακτος και άλιπο γάλα	Πρωτεΐνες ορού γάλακτος και άλιπο γάλα	Πρωτεΐνες ορού γάλακτος και άλιπο γάλα	Ορός γάλακτος μερικός υδρολυμένος	Ορός γάλακτος μερικός υδρολυμένος	Άλιπο γάλα, ορός γάλακτος	Άλιπο γάλα, ορός γάλακτος
Λίπη.									
Σύνολο (g)	5.4±0.9	5	5	5.43	5.43	5.2	5.2	4.8	4.9
% συνολικής ενέργειας	44–52	44	44	47	47	40	47	43 [±]	44 [±]
Πηγή	Τριγλυκερίδια	MCT. Σογιέλαιο. Φυτικό λίπος πλούσιο σε ελαϊκό. DHA και AA	MCT. Σογιέλαιο. Φυτικό λίπος πλούσιο σε ελαϊκό. DHA και AA	MCT. Σογιέλαιο. Έλαιο καρύδας DHA και AA	MCT. Σογιέλαιο. Έλαιο καρύδας DHA και AA	MCT. Σογιέλαιο πλούσιο σε ελαϊκό. DHA και AA	MCT. Σογιέλαιο πλούσιο σε ελαϊκό. DHA και AA	Φυτικά έλαια. MCT. Λιπίδια αυγού (γαλακτοματοποιητής) Ω3 και Ω6 λιπαρά. Ιχθυέλαια. DHA και AA	Φυτικά έλαια. MCT. Λιπίδια αυγού (γαλακτοματοποιητής). Ιχθυέλαια. DHA και AA
Αναλογία λιπών	99	40/30.5/27/2.5	40/30/27/2/1	50/30/18.3/0.25/ 0.4	50/30/18.3/0.25/ 0.4	40/29/29/2	40/29/29/2	18% MCT	17.9% MCT
Λινολεϊκό οξύ (mg)	440–1500	810	810	700	700	990	990	N/A	629
Υδατάνθρακες.									
Σύνολο (g)	10±0.6	10.8	10.5	10.3	10	10.5	9.7	10.3	10.5
% συνολικής ενέργειας	40–44	43	42	41	40	42	39	41	42
Πηγή	Λακτόζη, γλυκόζη	Σιρόπι αραβοσίτου, λακτόζη	Σιρόπι αραβοσίτου, λακτόζη	Σιρόπι αραβοσίτου, λακτόζη	Σιρόπι αραβοσίτου, λακτόζη	Λακτόζη, μαλτοδεξτρίνη	Λακτόζη, μαλτοδεξτρίνη	Λακτόζη, σιρόπι γλυκόζης	Λακτόζη, σιρόπι γλυκόζης

	Mature Preterm Human Milk (Unfortified)	Enfamil® Premature	Enfamil® Premature 24 Cal High Protein	Similac® Special Care® with Iron	Similac® Special Care® 24 High Protein	Gerber® Good Start® premature	Gerber® Good Start® premature 24 High Protein	Milupa Aptamil® Gold+Preterm	Cow&Gate® Nutriprem 1
Ιχνοστοιχεία.									
Ca (mg)	37-44	165	165	180	180	164	164	115	117
P (mg)	19-21	90	90	100	100	85	85	76	77.4
Ca:P	1.9-2.2:1	2:1	1.8:1	1.8:1	1.8:1	1:9	1:9	1.5:1	1.5:1
Na (mg)	30-37	70	70	43	43	55	55	86	87.2
K (mg)	78-85	98	98	129	129	120	120	101	102
Cl (mg)	63-82	106	106	81	81	85	85	93	94.5
Fe (mg)	0.2	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	2.1	1.99
Zn (mg)	0.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.3	1.3	1.3	1.37
Mg (mg)	4.4-4.9	9	9	12	12	10	10	9.8	10
Βιταμίνες.									
A (µg)	104-125	405	405	375	375			444	361
D (IU)	3-3.2	300	300	150	150	180	180	148	148
E (IU)	1.9	6.3	6.3	4	4	6	6	6.5	6.6
K (µg)	0.3	9	9	12	12	8	8	7.4	7.5
C (mg)	5-6.25	20	20	37	37	30	30	21	21.2
B ₁ (µg)	200	200	200	250	250	200	200	172	170
B ₂ (µg)	270-310	300	300	620	620	300	300	246	250
B ₆ (µg)	18-20	150	150	250	250	200	200	148	150
Φυλλικό οξύ (µg)	12	40	40	37	37	45	45	43	35
Λοιπά									
Οσμωτικότητα (mOsm/kg)	290	320	300	280	280	275	299	375	375

Ανατύπωση από: Hay WW Jr., Hendrickson KC. Preterm formula use in the preterm very low birth weight infant. Semin Fetal Neonatal Med. 2017

Feb;22(1):15-22.

Παράρτημα Β.

Συντομογραφίες.

Συντομογραφία.	Απόδοση.
NEC	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα
NICU	Μονάδα εντατικής θεραπείας νεογνών
SIP	Αυτόματη ρήξη εντέρου
ELBW	Βρέφη εξαιρετικά χαμηλού βάρους γέννησης
IVH	Ενδοκοιλιακή εγκεφαλική αιμορραγία
BPD	Βρογχοπνευμονική δυσπλασία
VLBW	Βρέφη ιδιαίτερα χαμηλού βάρους γέννησης
CRP	C αντιδρώσα πρωτεΐνη
IL-4	Ιντερλευκίνη 4
ET-1	Ενδοθηλίνη 1
NO	Οξειδίο του αζώτου
NOS	Συνθετάση οξειδίου του αζώτου
ETA	Υποδοχέας ενδοθηλίνης τύπου Α
ETB	Υποδοχέας ενδοθηλίνης τύπου Β
RBC	Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων
IFN-γ	Ιντερφερόνη γ
TNF-α	Παράγοντας νέκρωσης όγκου
IL-1	Ιντερλευκίνη 1
IL-1α	Ιντερλευκίνη 1α
IL-1β	Ιντερλευκίνη 1β
IL-1Ra	Ανταγωνιστής υποδοχέα IL-1
IL-6	Ιντερλευκίνη 6
IL-8	Ιντερλευκίνη 8
IL-10	Ιντερλευκίνη 10
IL-12	Ιντερλευκίνη 12
IL-13	Ιντερλευκίνη 13
IL-17	Ιντερλευκίνη 17
IL-18	Ιντερλευκίνη 18
TGF-β	Μετασχηματικός αυξητικός παράγοντας β

IEC	Εντεροκύτταρα
PRR	Υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων
TLR	Υποδοχείς τύπου Toll
NLR	Υποδοχείς NOD
MHC	Μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας
DC	Δενδριτικά κύτταρα
Tregs	Ρυθμιστικά κύτταρα T
GALT	Λεμφοειδής ιστός σχετιζόμενος με το έντερο
GLP	Πεπτίδιο τύπου γλυκαγόνης
VIP	Αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο
H ₂ RA	Αναστολείς υποδοχέων ισταμίνης τύπου 2
sIgA	Εκκριτική ανοσοσφαιρίνη A
LPS	Λιποπολυσακχαρίδες
NF-κB	Πυρηνικός παράγοντας κB
PCR	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
NK	Κύτταρα φυσικοί φονείς
PGE2	Προσταγλανδίνη E2
PAF	Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
PAF-AH	PAF-ακετυλδωρολάση
TXA2	Θρομβοξάνιο A2
GM-CSF	Διεγερτικός παράγοντας κοκκιοκυττάρων – μακροφάγων
SIRS	Συστηματική φλεγμονώδης απόκριση
HMO	Ολιγοσακχαρίτες ανθρώπινου γάλακτος
IgG	Ανοσοσφαιρίνη G
IgM	Ανοσοσφαιρίνη M
EGF	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
AA	Αραχιδονικό οξύ
EPA	Εικοσαπεντανοϊκό οξύ
DHA	Δοκοσαεξανοϊκό οξύ
LC-PUFA	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλύσου
PUFA	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
SCFA	Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου
GBS	Στρεπτόκοκκου ομάδας B
CMV	Κυτταρομεγαλοϊός

HIV	Ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας
HSV	Ερπητοϊός
HBV	Ιός ηπατίτιδας Β
HCV	Ιός ηπατίτιδας C
HPV	Ιός ανθρωπίνων θηλωμάτων
IGF	Αυξητικός παράγοντας τύπου ινσουλίνης
TPN	Ολική παρεντερική διατροφή
Epo	Ερυθροποιητίνη
MCT	Τριγλυκερίδια μέσης αλύσου
BUN	Άζωτο ουρίας