

С.Г. Макарова^{1, 2}, М.И. Броева¹¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация² Первый Московский медицинский государственный университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

Влияние различных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты

Контактная информация:

Макарова Светлана Геннадиевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом профилактической педиатрии НЦЗД, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, тел.: +7 (495) 967-04-20, доб. 16-03, e-mail: sm27@yandex.ru

Статья поступила: 18.02.2016 г., принята к печати: 27.06.2016 г.

Благодаря современным молекулярно-генетическим методам исследования микробиоты идентифицированы многочисленные, ранее не изученные виды бактерий. В результате существенно изменились представления о микробиоценозе человека, в частности о микробиоте кишечника, в значительной степени определяющей здоровье человека. В последние годы описаны механизмы влияния бактерий на метаболиты, эндокринную регуляцию и функцию нервной системы. Формирование кишечной микробиоты на ранних этапах зависит от таких факторов, как осложненное течение беременности, недоношенность, оперативное родоразрешение, позднее прикладывание к груди или искусственное вскармливание с рождения, антибиотикотерапия. Однако, результаты последних исследований свидетельствуют, что воздействие микробного фактора на ребенка начинается задолго до его рождения. Современная научная гипотеза о том, что ряд отклонений в течение беременности и преждевременные роды могут быть вызваны вялотекущим микробным воспалением в полости матки, также сформировалась в связи с изучением микробиоценозов плаценты и амниотических вод. В обзоре представлен анализ последних данных о влиянии как антенатальных, так и постнатальных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты у детей.

Ключевые слова: кишечный микробиоценоз, микробиота, пробиотики, пребиотики, перинатальная патология.

(Для цитирования: Макарова С.Г., Броева М.И. Влияние различных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты. *Педиатрическая фармакология*. 2016; 13 (3): 270–282. doi: 10.15690/pf.v13i3.1577)

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы произошли значительные изменения в представлении о микробиоценозе различных экологических ниш человека. При помощи новых молекулярно-генетических методов исследования микробиоты были идентифицированы многочисленные, ранее не изученные виды бактерий.

На сегодняшний день известно, что микробиота кишечника в значительной степени обуславливает здоровье человека: микробные сообщества во многом

определяют иммунный ответ и влияют на устойчивость к патогенам, участвуют в обмене практически всех макро- и микронутриентов [1–3]. В свою очередь, состояние здоровья макроорганизма, его питание и окружающая среда также влияют на состав микрофлоры кишечника. На ранних этапах формирования кишечной микробиоты большое значение имеет воздействие таких факторов, как осложненное течение беременности, недоношенность, оперативное родоразрешение, позднее прикладывание к груди или искусствен-

Svetlana G. Makarova^{1, 2}, Marika I. Broeva¹¹ Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Different Factors Influencing Early Stages of Intestine Microbiota Formation

Thanks to modern molecular-genetic microbiota analysis, numerous previously unstudied bacteria were identified. As a result, the conception of human microbiocenosis was significantly changed, particularly the conception of intestinal microbiota, which substantially determines human health. The ways the bacteria affect the metagenome, endocrine regulation and function of the nervous system have been described in recent years. At its early stages, the formation of intestinal microbiota depends on such factors as a complicated gestation course, prematurity, surgical delivery, late breast latching, artificial feeding since birth or antibiotic therapy. However, the results of latest studies indicate that the microbial factor affects children long before their birth. Present scientific hypothesis regarding torpid microbial inflammation in uterine cavity as a cause of disturbances in the gestation course or of preterm labour was also formed in connection with investigating placenta and amniotic fluid microbiocenoses. This survey presents analysis of the latest data concerning the affection of both antenatal and postnatal factors at early stages of intestinal microbiota conditioning in children.

Key words: intestinal microbiocenosis, microbiota, probiotics, prebiotics, perinatal pathology.

(For citation: Makarova Svetlana G., Broeva Marika I. Different Factors Influencing Early Stages of Intestine Microbiota Formation. *Pediatricheskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2016; 13 (3): 270–282. doi: 10.15690/pf.v13i3.1577)

ное вскармливание с рождения, антибиотикотерапия. Однако, результатами последних исследований подтверждено, что формирование микробиоценоза и воздействие микробного фактора на ребенка начинается задолго до его рождения.

В настоящее время благодаря изучению микробиоценозов плаценты и амниотических вод была выдвинута научная гипотеза о том, что ряд отклонений в течение беременности и преждевременные роды могут быть обусловлены вялотекущим микробным воспалением в полости матки [4].

Целью обзора является систематизация новых данных о роли ранних этапов формирования микробиоты в формировании здоровья ребенка.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О КИШЕЧНОМ МИКРОБИОЦЕНОЗЕ И МЕТОДЫ ЕГО ИЗУЧЕНИЯ

Определение нуклеотидной последовательности (метод секвенирования) генов 16S РНК, имеющих в геноме всех бактерий, но отсутствующих у эукариот и вирусов, широко используют при изучении микробной популяции, населяющей организм здорового человека. Идентификация бактерий осуществляется по видоспецифическим участкам 16S РНК генов [1]. В рамках глобального проекта «Микробиом человека» (2008) при помощи молекулярно-генетических методов исследования микробиоты были идентифицированы многочисленные виды бактерий, не поддающиеся культивированию: обнаружено, что известным ранее микроорганизмам принадлежит не более 24% полученных последовательностей 16S РНК. Новые данные о микроорганизмах, населяющих микробиоты человека, привели в настоящее время к пересмотру фундаментальных представлений о микробиоценозе человека. Расшифрованы пока не все гены микроорганизмов, населяющих различные экологические ниши человека, но уже очевидно, что более 99% генетического материала, который можно получить с тела здорового человека, принадлежит бактериям [5, 6].

На основании анализа микробиома было обнаружено, что кишечная популяция микроорганизмов даже у абсолютно здоровых людей значительно отличается: так, вариации микробиоты на видовом уровне происходят непрерывно, однако типовой состав бактерий относительно стабилен и сохраняет определенные закономерности. Так, стало известно, что более 90% бактерий, населяющих кишечник, являются членами только двух типов — *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, с некоторой разницей в преобладании представителей тех или других [6–8]. Многие из этого разнообразия микробиоты не имеют пока научного объяснения, хотя появляется все больше данных о влиянии средовых факторов — экологии, питания, воздействия микробного фактора в раннем детском возрасте [8–10]. От предложенной ранее гипотезы «энтеротипов» [9] в настоящее время отказались, поскольку стало ясно, что, во-первых, все индивидуальное разнообразие микробиоценозов кишечника человека не укладывается в идею энтеротипов, а во-вторых, что два из них связаны с питанием: длительное (или постоянное) употребление пищи, богатой белком и животными жирами, ассоциируется с энтеротипом *Bacteroides*, в то время как диета, богатая углеводами, связана с энтеротипом *Prevotella* [11].

Новые данные о функции кишечной микробиоты в организме

Изучение кишечной микробиоты молекулярно-генетическими методами позволило расширить наши представления и о ее функциях. Помимо хорошо изученной защитной функции, заключающейся в обеспечении коло-

низационной резистентности по отношению к патогенной микрофлоре, а также не менее значимой иммунной функции, осуществляемой за счет постоянного взаимодействия с лимфоидной тканью, ассоциированной с кишечником (Gut-Associated Lymphoid Tissue, GALT), значительно расширены представления о метаболической функции кишечной микробиоты [12].

Получено подтверждение, что микробиота кишки не только участвует в метаболизме всех без исключения макро- и микронутриентов, но и регулирует его. В настоящее время доказано влияние бактерий на метагеном человека через регуляцию экспрессии генов, что позволило сформировать представление о программирующем влиянии кишечной микробиоты на метаболизм человека [13]. Соответственно, влияние на метагеном может рассматриваться в качестве еще одной функции микробиоты человека.

Многочисленные данные о влиянии микробиоты на уровне гормонального ответа позволили сформировать представление о том, что **кишечная микробиота является, по сути, «виртуальным эндокринным органом»** [14]. Влияние биологически активных веществ со свойствами нейромедиаторов, которые вырабатывает целый ряд бактерий, распространяется далеко за пределы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Так, *Lactobacillus rhamnosus* PL60 вырабатывают конъюгированную форму линолевой кислоты, предотвращающую ожирение. Метаболизм пребиотика инулина влияет на выработку таких гормонов и гормоноподобных веществ, как глюкагонподобный пептид-1, пептид YY, грелин и лептин. В эксперименте манипулирование составом микробиоты изменяло в плазме крови концентрацию триптофана — предшественника серотонина, ключевого нейромедиатора вегетативной и центральной нервной системы. Через неизвестные пока механизмы микробиота кишечника осуществляет контроль над гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой [14]. Также в эксперименте было показано, что моноколонизация некоторыми видами бактерий, включая *Bifidobacterium infantis*, снижает показатели стресса у безмикробных животных [14]. Появились экспериментальные данные о влиянии микробиоценоза кишечника на поведение, что также связывают со способностью микроорганизмов к выработке нейротрансмиттеров [14]. Оказалось, что состав микробиоты определяет экспрессию генов, ответственных за регуляцию аппетита гипоталамусом, экспрессию генов сигнальных молекул в тонкой кишке, влияющих на метаболизм, а также генов, задействованных в липогенезе и метаболизме глюкозы, регуляции обмена адипоцитов и накоплении жировой ткани [13, 15, 16].

В результате была сформулирована современная научная гипотеза о том, что **микробиоценоз управляет практически всеми процессами поддержания гомеостаза в нашем организме** [17].

В настоящее время обсуждается и **генетическая функция** кишечной микрофлоры. По всей видимости, обмен генетическим материалом с клетками человека происходит посредством фагоцитоза, в результате которого микробиота, приобретая свойственные организму хозяина рецепторы и другие антигены, адаптирует их к иммунной системе человека. В свою очередь, микроорганизмы влияют на экспрессию генов макроорганизма [1].

Новые взгляды на ранние этапы формирования кишечного микробиоценоза

Ранее считалось, что ключевым моментом в формировании микробиоценоза кишечника является «первичная колонизация кишечника», и что микрофлора ребенка

формируется на протяжении первых месяцев жизни. Предложенное M. S. Cooperstock и A. J. Zedd [18] деление на фазы подразумевало следующие этапы формирования микробиоты:

- I фаза — в течение первых двух недель от рождения происходит заселение кишечника стрептококками и *Escherichia coli*, которые готовят среду для заселения на 4–7-й день *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*;
- II фаза соответствует периоду исключительно грудного вскармливания и характеризуется ростом числа *Bifidobacterium*;
- III фаза продолжается от начала введения прикорма до полного прекращения кормления грудью;
- IV фаза продолжается до полного введения прикорма и формирования «взрослого» рациона [18, 19].

Следует отметить, что такое деление на фазы носит достаточно условный характер и по мере поступления новых данных в значительной мере пересматривается. Во-первых, ни в коей мере не умаляя важности начальных этапов колонизации кишечника сразу после рождения, а также роли этого этапа в формировании микробиоты и иммунного ответа ребенка, следует признать, что термин «первичная колонизация» в отношении постнатального периода в настоящее время не совсем корректен. Дело в том, что результатами многочисленных современных исследований доказан факт колонизации кишечника микроорганизмами околоплодных вод уже во время беременности [4]. Следовательно, процесс колонизации кишечника начинается значительно раньше, и многие иммунные реакции на представителей микробиоты запускаются задолго до рождения ребенка. Во-вторых, молекулярно-генетическими методами исследования подтверждено, что относительно устойчивый состав микробиоты ребенка формируется примерно к 3 годам жизни, а до этого времени он отличается еще большей нестабильностью, чем у взрослых [20]. Так, за период 2,5-летнего наблюдения у одного здорового ребенка были изучены 60 образцов анализа кала и проведена идентификация более чем 300 000 генов 16S рПНК. Обнаружено, что при значительных колебаниях в ответ на внешние воздействия разнообразие микробиоты ребенка имело линейную тенденцию развития. Наиболее заметные изменения в составе микробиоты отмечены на фоне лихорадки, антибиотикотерапии или при изменении питания. Так, в микробных сообществах в первые месяцы жизни ребенка преобладали гены, ответственные за усвоение лактата, а после введения прикорма — гены, отвечающие за утилизацию углеводов, биосинтез витаминов и деградацию ксенобиотиков. Отмечены также устойчивый рост *Bacteroides* и увеличение уровня короткоцепочечных жирных кислот в кале [20].

По результатам последних исследований, микробный биоценоз кишечника человека в значительной мере **генетически предопределен** (бактерии распознаются рецепторами, локализованными в муциновом слое). Так, выявлена почти полностью идентичная анаэробная и аэробная микрофлора у однояйцевых близнецов [21–23]. Авторы исследования с участием моно- и дизиготных троен [23] пришли к выводу, что на начальных этапах формирования микробиоты ключевое значение имеют генетические факторы, в дальнейшем — средовые.

В настоящее время описана целая группа генов человека, от которых зависит превалирование тех или иных видов микроорганизмов на протяжении жизни (табл.).

Воздействие микробного фактора в антенатальном периоде

В настоящее время очевидно, что микробное программирование иммунной системы начинается внутриутробно и является главным фактором развития сбалансированной иммунной системы у новорожденных. Определенные виды бактерий совместно с их продуктами, воздействуя на иммунный ответ на самых ранних этапах его формирования, не только оказывают непосредственное влияние на здоровье новорожденного, но и имеют отдаленные последствия для иммунной системы в целом. Начавшись антенатально, программирование, по существу, модулируется во время и после рождения в зависимости от типа родоразрешения, перинатального применения антибиотиков и типа вскармливания [35].

Ремоделирование микробиоты кишечника женщины в периоде беременности

В течение нормальной беременности организм женщины претерпевает существенные гормональные, иммунологические и метаболические изменения. Так, многие иммунные и метаболические изменения соответствуют таковым при метаболическом синдроме, при котором наличие гипергликемии, инсулинорезистентности, избыточного накопления жировой ткани и вялотекущего воспаления предрасполагает к развитию сахарного диабета 2-го типа [16, 36]. Так, к III триместру происходит снижение чувствительности к инсулину [37], которое коррелирует с изменениями в иммунном статусе во время беременности, в том числе с повышением уровня цитокинов — фактора некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α и интерлейкина (Interleukin, IL) 6 [38]. При этом именно такие иммунные сдвиги являются отражением ассоциированного с ожирением метаболического воспалительного процесса [39]. Однако, в отличие от ожирения как болезни, наносящей ущерб здоровью, накопление жировой ткани и снижение чувствительности к инсулину при физиологической беременности являются необходимыми сдвигами для обеспечения роста ребенка и подготовки организма к высоким энергетическим затратам в период лактации [40].

Механизмы этих метаболических изменений в период беременности долго оставались нерасшифрованными, в частности была неясна причина снижения чувствительности к инсулину. Однако, совсем недавно выдвинуто предположение, что это явление, по всей видимости, связано со значительным ремоделированием кишечной микробиоты, происходящим во время беременности. Так, в исследовании O. Koren и соавт. [41], включавшем 91 беременную и их детей, было подробно изучено состояние микробиоты кишечника в течение всего срока вынашивания. Обнаружено, что в I триместре микробиота имеет небольшие индивидуальные отличия и сопоставима с микробиотой небеременных женщин, однако к III триместру филогенетический состав и структура микробиоты резко меняются: значительно нарастают индивидуальные отличия микробиоты и снижается видовое разнообразие, в большинстве образцов увеличивается число *Proteobacteria* (характерных для ассоциированного с воспалением дисбиоза [42]) и *Actinobacteria*, и, напротив, снижается число бутиратпродуцирующих *Faecalibacterium*, имеющих противовоспалительный эффект. Показано, что происходящие изменения индивидуальны, но при этом не связаны ни с исходным состоянием микробиоты в I триместре, ни с питанием, ни с показателями здоровья матери. Однако, так или иначе характеристики микробиоты в III триместре беременности напоминают таковые у больных с метаболическим синдромом

Таблица. Гены, ассоциированные с определенными особенностями микробной колонизации кишечника (адаптировано из [24])

Ген	Роль продуктов гена	Влияние на кишечную микробиоту и развитие ассоциированных с ней заболеваний
IgA	Антитела, играющие главную роль в иммунном ответе слизистой оболочки. IgA не проникают через плаценту и должны продуцироваться нерожденным ребенком. IgA также являются важным компонентом грудного молока	IgA имеет главную роль в поддержании гомеостаза кишечника. В эксперименте переход от неонатальной к зрелой микробиоте регулируется индукцией γ - <i>Proteobacteria</i> -специфическим IgA ответом [25]. Люди с дефицитом IgA имеют большую склонность к целиакии и воспалительным заболеваниям кишечника [26]
Дефензины	Класс антимикробных пептидов, важных для иммунного ответа на уровне слизистых оболочек	В эксперименте у мышей без активированного α -дефензина снижено содержание <i>Bacteroides</i> и <i>Firmicutes</i> в тонком кишечнике [27]. Уменьшение числа копий гена α - и β -дефензинов ассоциировано с болезнью Крона [28, 29]
HLA	<i>HLA</i> -ген на 6-й хромосоме кодирует антигенпрезентирующие белки клеточной поверхности, запускающие иммунный ответ, в том числе продукцию антител	Наследование специфических HLA-DQ генотипов объясняет 40% генетической предрасположенности к целиакии [30]. У пациентов с высоким риском целиакии, основанной на <i>HLA</i> -генотипах, микробный состав фекалий показал отличия в представленности родов <i>Bacteroides</i> и <i>Prevotella</i> [31]
MEFV	Продукт гена — пирин — контролирует воспалительные реакции, взаимодействуя с цитоскелетом лейкоцитов	Ген ассоциирован с семейной средиземноморской лихорадкой. При исследовании кала люди с мутацией <i>MEFV</i> имеют различия в микробиоме, в зависимости от носительства определенного аллеля. Микробиота пациента с семейной средиземноморской лихорадкой отличается меньшим разнообразием [32]
MYD88	Адапторный белок MyD88 (белок 88 миелоидной дифференцировки), обеспечивающий передачу сигнала от TLR и первичный ответ миелоидных клеток на бактериальные продукты, имеет решающее значение во врожденном иммунитете, опосредованном через TLR	При отсутствии MyD88 нарушаются реакции врожденного иммунного ответа на возбудителей. У MyD88-дефицитных мышей в образцах слепой кишки имеются отличия представителей нескольких семейств (<i>Lactobacillaceae</i> , <i>Rikenellaceae</i> и <i>Prophylomonadaceae</i>) по сравнению с мышами дикого типа [33]
NOD2	Нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации является ключевым внутриклеточным рецептором распознавания чужеродных белков	У пациентов с болезнью Крона и некротическим язвенным колитом значительные отклонения в микробиоте кишечника ассоциированы с генотипом NOD2 [34]

Примечание. HLA (Human Leukocyte Antigens) — главный комплекс гистосовместимости у людей, TLR (Toll-like Receptor) — толл-подобные рецепторы, NOD2 (Nucleotide-binding Oligomerization Domain) — цитозольный белок.

и ожирением [36]; обнаружено также, что пересадка микробиоты от беременных в III триместре безмикробным мышам вызывает у них ожирение и воспалительные реакции [16, 41].

Закономерно возникает вопрос, насколько характерные для последних месяцев беременности изменения влияют на процесс колонизации кишечника ребенка после родов, и не может ли aberrантная микробиота колонизировать кишечник ребенка и оказывать отрицательное влияние на формирование иммунной системы с долгосрочными последствиями для его здоровья [43].

В уже известном исследовании О. Koren [41] был обнаружен удивительный факт: микробиота детей, независимо от возраста на момент исследования, ближе к микробиоте матери в I триместре беременности, а не в III. Это говорит о том, что большинство бактерий, характерных для III триместра, подвергаются негативной селекции в кишечнике ребенка и не приживаются. Более того, не было обнаружено различий между микробиотой детей, рожденных от матерей с/без инсулинорезистентности и/или диабета во время беременности. Как и в других исследованиях, проведенных на разных континентах, было показано, что микробиота детей имеет значительные индивидуальные отличия, характеризуется низким разнообразием и лишь со временем приближается к микробиоте матери [20, 44], что еще раз доказывает важность влияния окружающей среды и питания.

Внутриутробная бактериальная колонизация

Существовавшие ранее представления о том, что внутриутробно ребенок развивается в стерильной среде, было поставлено под сомнение уже в 1927 г. — с момента открытия Harris и Brown [45] бактерий в амниотической жидкости при кесаревом сечении. В эпоху передовых молекулярных микробиологических методов стало ясно, что полость матки колонизирована самыми различными микроорганизмами [4, 46], при этом наличие многих из них считают причиной преждевременных родов. В связи с этим в настоящее время разрабатывается «гипотеза преждевременных родов как полимикробной болезни» [47]. В частности, такие бактерии, как *Ureaplasma spp.* и *Fusobacterium spp.*, обнаруживались в матке, в значительной степени при неблагоприятных исходах беременности [47].

Механизм передачи бактерий от матери к ребенку в период его внутриутробного развития до конца не расшифрован. Ранее полагали, что колонизация хориона происходит восходящим путем через урогенитальный тракт, однако с учетом современных взглядов гематогенный путь передачи считается дополнительным источником фетальной и перинатальной бактериальной экспозиции. Известно, что во время беременности и лактации увеличивается бактериальная транслокация из кишечника в кровоток матери, а оттуда в другие органы [48]. Хотя еще не ясно, какой процесс активен во время беременности: были описаны несколько путей для миграции бактерий из просвета кишечника через неповрежденный

кишечный эпителий — через дендритные клетки [49–51], клетки крипт [52] и бокаловидные клетки [53]. В дополнение к миграции живых бактерий в системный кровоток попадают различные соединения бактериального происхождения. Так, полисахариды А (polysaccharide А, PSA), продуцируемые *Bacteroides fragilis*, влияют на иммунную систему слизистой оболочки. PSA индуцирует пул FOXP3+ Treg клеток в слизистой оболочке кишечника, которые имеют решающее значение в реакции на пищевые антигены и в профилактике воспалительных заболеваний кишечника [54–56]. А прием пробиотиков *L. rhamnosus* и/или *Bifidobacterium lactis* во время беременности модулирует иммунный ответ у ребенка и повышает иммунозащитных компонентов в грудном молоке [57].

Убедительные данные о присутствии бактерий в амниотической жидкости были получены С. Combs с соавт. [58]: в исследовании участвовали 305 женщин с преждевременными схватками при отсутствии повреждения плодных оболочек. С использованием комбинации методов по обогащению культуры и 16S рДНК клонирования наличие бактерий в амниотической жидкости обнаружено в 30 образцах, 26 случаев были интерпретированы как инфекция на основании повышенного уровня IL 6 (> 11,2 нг/мл) и 4 — как колонизация при уровне IL 6 < 2,6 нг/мл. Большинство идентифицированных организмов относились к *Ureaplasma urealyticum* (n = 11), *Fusobacterium nucleatum* (n = 5), *Bacteroides urealyticus* (n = 4), *Sneathia sanguinegens* (n = 4), *Ureaplasma parvum* (n = 4) и *Streptococcus agalactiae* (n = 3).

Существует мнение, что *Ureaplasma* типа *Firmicutes* phylum является причиной перинатальной инфекции, а также неонатальной заболеваемости и смертности. *Ureaplasma* выделяется из амниотической жидкости уже на 16–20-й нед гестации и ее присутствие в хориоамнионе, изолированно или сочетанно с другими бактериями, прогностически было связано с гистологически подтвержденным хориоамнионитом и преждевременными родами [35, 59]. Однако, роль *Ureaplasma spp.* в развитии хориоамнионита и неблагоприятных исходов беременности остается спорной, т.к. 60–80% женщин оказались колонизированы этой бактерией, но только немногие из них развили гистологически подтвержденный хориоамнионит. Кроме того, клинические исследования, в которых женщины получали лечение от *Ureaplasma* до и после родов, не выявили никаких различий в исходах [60]. Тем не менее в последнее время появились убедительные данные о связи внутриутробного воздействия *Ureaplasma* с развитием бронхолегочной дисплазии, внутрижелудочковых кровоизлияний и некротизирующего энтероколита у детей [60].

На экспериментальных моделях было показано, что эндотоксин грамотрицательных бактерий вызывает преждевременные роды у животных и может сыграть роль фактора, инициирующего преждевременные роды у человека [61–63]; были также смоделированы системные осложнения, такие как легочная гипертензия, сердечная недостаточность, бронхолегочная дисплазия и некротический энтероколит [64]. Имеются и отдельные клинические сообщения о наличии липополисахарида (lipopolysaccharide, LPS) в пуповинной крови доношенных и недоношенных младенцев и его связи с течением антенатального периода [65]. Грамотрицательные бактерии и растворимые формы белка CD14 (Cluster of Differentiation) были выделены из амниотической жидкости женщин при преждевременных родах [66]. Предполагается, что LPS может быть важным фактором в инициировании хориоамнионита и воспаления у ребенка. В плазме LPS образует комплекс с LPS-свя-

зывающим белком, который стимулирует макрофаги, связываясь с CD14. А CD14 может активировать моноциты и макрофаги, которые сами по себе не реагируют на липополисахарид. Соответственно, даже низкие уровни LPS могут инициировать цитокиновый каскад [67]. Возможно, что этот цитокиновый каскад (IL 6, TNF α , IL 1 β) и запускает состояния, приводящие к преждевременным родам [68–70].

В недавнем исследовании D. G. Martinez-Lopez и соавт. [64], в которое вошли 15 доношенных и 76 недоношенных детей, изучалось содержание в пуповинной крови LPS, С-реактивного белка (СРБ) и растворимого CD14 (sCD14). Уровни LPS (24,48 против 1 мкг/мл), СРБ (87,9 против 47 нг/мл) и sCD14 (0,32 против 0,35 мкг/мл) были значительно выше у недоношенных новорожденных. При этом уровни LPS в пуповинной крови коррелировали с гестационным возрастом, массой тела при рождении, уровнями СРБ и sCD14, а также с наличием клинических и гистологических проявлений хориоамнионита. Авторы пришли к выводу, что высокие уровни LPS связаны с преждевременными родами и воспалительными процессами как в плаценте, так и у ребенка после рождения [64].

С использованием 16S рПНК секвенирования были идентифицированы бактерии плацентарной мембраны и показано, что независимо от способа родоразрешения (естественные или оперативные роды) только в плацентах преждевременно родившихся младенцев обнаруживались *Mycoplasma hominis*, *Aerococcus christensenii*, *Gardnerella vaginalis* и *F. nucleatum* [71].

Существуют данные и в пользу того, что вирусное инфицирование плаценты может быть связано с неблагоприятным исходом беременности, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения. Вирусы могут присутствовать в тканях и никак себя не проявлять, однако считается, что при сочетании с бактериальной инфекцией они могут внести существенный вклад в развитие преждевременных родов [47]. Также необходимы исследования для установления роли грибковой колонизации плаценты и амниона, поскольку наши знания о грибах, которые колонизируют полость матки, в настоящее время ограничивается дрожжами, в основном *Candida spp.* [47].

Микробиота мекония

До недавнего времени считалось, что ЖКТ здорового доношенного новорожденного стерильен, однако сначала были получены экспериментальные доказательства внутриутробной бактериальной транслокации [72], а затем и клинические исследования подтвердили, что кишечник младенца заселен еще до рождения. Предполагается, что меконий отражает состав микробной среды в период внутриутробного развития.

В исследовании A. N. Ardissonne и соавт. [73] изучались корреляции между составом кишечных бактерий из мекония и гестационным возрастом с целью выявления механизмов, которые могут способствовать преждевременным родам. С применением анализа 16S рПНК был изучен меконий 52 недоношенных детей с гестационным возрастом от 23 до 41 нед. Проведенный статистический анализ показал, что наиболее часто бактериальные 16S рПНК обнаруживались в меконии младенцев, гестационный возраст которых был менее 33 нед. Примерно 61% последовательностей ПНК были классифицированы как принадлежащие к группам бактерий, которые ранее были описаны в амниотической жидкости. Гестационный возраст имел наибольшую связь со структурой микробного сообщества. Вид родовспоможения (кесарево сечение по сравнению с вагинальными родами) также коррелировал с особенностями микробиоты, хотя и в меньшей степени. Было пока-

зано, что наличие в меконии бактерий групп *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Photorhabdus* и *Tannerella* негативно коррелирует с гестационным возрастом, и, как делают вывод авторы исследования, они также могут иметь значение в развитии преждевременных родов. Результаты этой работы стали очередным свидетельством в поддержку гипотезы о том, что микробиота, полученная нерожденным ребенком из амниотической жидкости, может запускать воспалительный ответ, который приводит к преждевременным родам [73].

Исследование L. Moles и соавт. [74] преследовало цель охарактеризовать у недоношенных младенцев ($n = 14$) микробиоту мекония и фекальных образцов, полученных в течение первых трех недель их жизни. Использовался как культуральный, так и молекулярно-генетический метод исследования микробиоты (анализ 16S rPHK). Сравнение двух технологий показало, что результаты в целом похожи, однако культуральный метод продемонстрировал более низкую чувствительность. Микробиота образцов имела отличия: в меконии основными группами бактерий были бациллы и другие представители *Firmicutes*, тогда как в образцах кала, взятых на 3-й нед, также преобладали *Enterococcus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Yersinia*. Таким образом, меконий новорожденных содержит определенный набор бактерий, который отличается от обнаруживаемого в образцах кала, взятого после первой недели жизни. Присутствие *Serratia* тесно связано со степенью незрелости организма и другими клиническими показателями, в частности с необходимостью антибиотикотерапии и искусственной вентиляции легких [74].

Постнатальная колонизация кишечника

Несмотря на то, что кишечник новорожденного уже нестерилен, тем не менее процесс колонизации кишечника ребенка непосредственно после рождения несопоставим по объему антигенной информации и его воздействию на иммунную систему в количественном и качественном отношении с антенатальным периодом. Первоначальную постнатальную колонизацию кишечника следует расценивать как одно из ключевых событий в жизни младенца: любые нарушения естественного хода заселения кишечника микрофлорой в этот период имеют отдаленные последствия для иммунной системы в целом.

Первое «знакомство» иммунной системы ребенка с представителями его будущей индигенной микробиоты происходит не только при внутриутробной колонизации, но и за счет контакта с более широким набором бактериальных антигенов: проникая трансплацентарно и попадая в вилочковую железу ребенка, ДНК материнских аутохтонных бактерий способствуют образованию предшественников Т-супрессорных клеток; «обученные» клетки (уже после рождения) мигрируют из тимуса в лимфоидную ткань кишечника, где происходит их окончательная дифференцировка. Именно за счет этих механизмов микробиота матери распознается как «своя» и обеспечивается толерантность к ее микроорганизмам, которые во внутриутробном периоде индуцировали у нерожденного ребенка формирование клеток-предшественников [12].

Поступление естественной флоры в значительном количестве сразу после рождения ребенка индуцирует его иммунологические реакции, а именно происходит расширение популяции внутриэпителиальных лимфоцитов и увеличение пролиферации клеток в криптах [75, 76]. В ворсинках кишки развивается выраженная реакция с индукцией многочисленных генов в энтероцитах и даже стимуляцией ангиогенеза [76, 77]. Многочисленные бактерии вызывают экспрессию разных генов, ответственных за иммунитет, и, вероятно, бактерии, которые «участвовали» в первоначальном заселении кишечника, получают определенные преимущества. Именно поэтому естественное течение родов и последующее грудное вскармливание, обеспечивая нормальную кишечную микробиоту, стимулируют иммунную систему младенца. С момента колонизации кишечника начинается формирование симбиотических связей между микрофлорой, эпителием и лимфоидной тканью [78, 79].

Индивидуальная микробиота ребенка постепенно формируется под воздействием как генетических, врожденных, так и средовых факторов. Таким образом, мы можем говорить о «совместной эволюции» характера питания, кишечного микробиоценоза и GALT в первые годы жизни ребенка [80].

Влияние различных факторов на постнатальную колонизацию кишечника

К основным факторам, негативно влияющим на биоценоз ребенка в постнатальный период его формирования, являются перинатальное использование антибиотиков, оперативное родовспоможение, позднее прикладывание к груди и искусственное вскармливание. В дальнейшем на составе микробиоты сказывается характер питания, любые отклонения здоровья, использование фармакопрепаратов, в первую очередь антибиотикотерапия. По всей видимости, ксенобиотики из пищи и воды на тонком уровне также могут регулировать взаимоотношения «микроб–хозяин».

Недоношенность, низкий вес при рождении и пребывание в стационаре

Как уже отмечалось, недоношенность ассоциируется с особенностями микробиома плаценты и, соответственно, с внутриутробной колонизацией кишечника, однако и после рождения процесс формирования микробиоты у этих детей подвержен влиянию целого ряда негативных факторов. В то время как у здоровых доношенных новорожденных переход от относительно стерильной внутриутробной среды сопровождается колонизацией кишечника с участием преимущественно микрофлоры матери (вагинальной, грудного молока, кожной, кишечной), недоношенные дети в связи с более продолжительным пребыванием в стационаре подвергаются воздействию больничных микроорганизмов. Незрелость слизистой оболочки и GALT, характерная для недоношенных детей, в сочетании с высокой проницаемостью кишечного барьера может проявляться избыточной воспалительной реакцией как на патогенные, так и на симбионтные бактерии [81, 82]. У недоношенных новорожденных также высока вероятность транслокации бактерий из ЖКТ [83].

Изучение кишечной микробиоты из образцов стула госпитализированных недоношенных новорожденных молекулярно-генетическими методами показало, что внутренний мир их организма отличается от здоровых доношенных новорожденных [84, 85]. В исследовании A. Schwartz и соавт. ежедневно методом анализа 16S rPHK на протяжении 4 нед изучалась микробиота

кала 29 недоношенных детей, находящихся в отделении интенсивной терапии. Было показано, что разнообразие микробиоты постепенно нарастает, однако остается значительно более низким по сравнению со здоровыми доношенными новорожденными. Кроме того, в группе недоношенных детей отмечалось значительно более низкое межиндивидуальное различие микробиоты с преобладанием у всех детей таких представителей, как *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *K. pneumoniae*, которые также достоверно чаще встречались в этой группе [84]. В другом исследовании фекального микробиоценоза недоношенных новорожденных также были продемонстрированы низкая степень биоразнообразия и рост частоты выявления *Staphylococcus* и *Pseudomonas* с увеличением возраста ребенка [86–88].

В исследовании V. Milisavljevic и соавт. [89] было изучено формирование микробиоты верхних отделов ЖКТ на ранних этапах у новорожденных, находящихся в палатах интенсивной терапии, с использованием анализа 16S рДНК: несмотря на соблюдение всех мер асептики, в 9 из 12 гастродуоденальных смывов были обнаружены бактерии, при этом доминировали виды *Ureaplasma* и стафилококки. К 4-й нед пребывания в стационаре увеличилось число грамотрицательных бактерий до 50% от общего объема организмов. *Firmicutes* присутствовали у большинства новорожденных, сохранялись на протяжении 4 нед и составляли почти половину секвенированных клонов. Авторы пришли к выводу, что заселение верхних отделов ЖКТ у недоношенных новорожденных, находящихся в палатах интенсивной терапии, происходит в первую очередь с участием представителей больничных штаммов, и отметили, что все эти бактерии известны как возбудители внутрибольничных инфекций [89].

Соответственно, помимо незрелости иммунной системы и различных патологических состояний, которые приводят к недоношенности, само по себе пребывание в отделении интенсивной терапии с присутствующими там госпитальными штаммами, а также различные медицинские манипуляции, в том числе установка зондов, влияют на ранние этапы формирования микробиоты ЖКТ у недоношенных новорожденных.

Влияние способа родоразрешения

Постнатальное заселение кишечника ребенка, рожденного путем кесарева сечения и, соответственно, с отсроченным прикладыванием к груди, происходит не с родовых путей и кожи матери, а с участием бактерий с рук персонала и больничных штаммов. Это нарушает описанные выше иммунные механизмы приоритетного заселения микроорганизмами материнского происхождения: оперативные роды ассоциируются у ребенка, в том числе и в отдаленном периоде (в возрасте 4 мес), с более низким содержанием бифидобактерий в кишечнике [90–94], а по данным молекулярно-генетического анализа — с менее разнообразной микробной популяцией и снижением представителей родов *Bacteroides* и *Bifidobacteria*.

Несмотря на то, что результаты исследований по изучению отдельных представителей микробиоты (*Clostridium difficile*, *Escherichia* и *Shigella*) у детей этой группы противоречивы [91, 95], именно с нарушением процесса формирования кишечного микробиоценоза связывают более высокую частоту аллергических проявлений в когорте детей после кесарева сечения [96]. Так, в исследовании I. Adlerberth и соавт. была изучена кишечная микробиота 324 детей из Швеции, Италии и Великобритании. При этом микрофлора исследовалась шестикратно на протяжении первого года жизни

и оценивалась культуральным методом. Сопоставление результатов с оценкой уровня специфических IgE к пищевым аллергенам (белкам коровьего молока, белку куриного яйца, рыбе, арахису, сое и пшенице) в возрасте 18 мес не выявило различий в составе микробиоценоза в зависимости от наличия/отсутствия пищевой сенситизации. Однако, были обнаружены различия в микрофлоре в зависимости от способа рождения: кишечник детей после кесарева сечения позднее колонизировался *E. coli* ($p < 0,001$), *Bifidobacteria* ($p < 0,001$) и *Bacteroides* ($p < 0,001$). В этой же группе в течение всего периода наблюдения отмечалось более высокое содержание клостридий ($p < 0,001$) [97].

Антибактериальная терапия в постнатальном периоде

Назначение антибиотиков широкого спектра действия в раннем неонатальном периоде негативно влияет на процессы формирования кишечной микробиоты. Показано, что после применения антибактериальной терапии у детей снижается колонизация *Lactobacillus* и отмечается повышенный рост *Staphylococcus* [98, 99]. В исследовании F. Fouhy и соавт. [100], проведенном у доношенных новорожденных, сообщается, что у детей, получавших ампициллин и гентамицин парентерально в течение первых 48 ч после рождения, в микробиоте кишечника преобладали *Proteobacteria* (в т.ч. *Enterobacteriaceae*) на фоне значительного снижения количества *Actinobacteria* (включая *Bifidobacterium*) и *Firmicutes* (в т.ч. *Lactobacillus*). При этом такие нарушения, как избыточное количество *Proteobacteria* и снижение микробного разнообразия, сохранялись по крайней мере в течение 8 нед после окончания антибиотикотерапии.

В исследовании E. Bonnemaïson и соавт. изучалась микробиота кишечника доношенных и недоношенных новорожденных, получивших антибиотикотерапию в связи с внутриутробной инфекцией [101]. После курса агрессивной терапии в группе детей, получавших амоксициллин и нетилмицин, были обнаружены *Klebsiella oxytoca* и *E. coli*, устойчивые к амоксициллину, *Enterococcus faecium*, коагулазонегативные стафилококки. У детей, получавших амоксициллин, цефотаксим и нетилмицин, была отмечена быстрая колонизация стафилококками и грибами рода *Candida* на фоне резкого снижения разнообразия кишечной микробиоты.

Есть данные, подтверждающие и весьма отдаленные последствия от применения антибиотиков в неонатальном периоде: так, назначение недельного курса клиндамицина в периоде новорожденности приводило к снижению разнообразия бактерий рода *Bacteroides* на протяжении последующих двух лет жизни [102]. В популяционном исследовании была показана также связь между использованием антибиотикотерапии в детском возрасте и развитием синдрома раздраженной кишки [103].

Характер вскармливания и роль олигосахаридов грудного молока

Раннее прикладывание к груди матери и последующее грудное вскармливание дают существенные преимущества ребенку как в отношении созревания его иммунной системы, так и для формирования микробиоты кишечника. Грудное молоко обеспечивает энтеральное поступление непосредственно после рождения ребенка не только идеального пищевого субстрата, но и целого комплекса иммунных факторов. Высокое (до 1 г/л в зрелом молоке и значительно выше в молозиве) содержание

секреторного иммуноглобулина А (IgA) обеспечивает пассивный иммунитет к патогенам. Помимо того, грудное молоко содержит антитела классов G, M и A, компоненты комплемента, лизоцим, лактоферрин, интерфероны и цитокины. Клеточный иммунный ответ представлен в грудном молоке В и Т лимфоцитами, нейтрофилами, макрофагами, моноцитами. Обнаружение бактерий в составе грудного молока в значительных количествах (от 10³ до 10⁴ КОЕ/мл) [104] позволило в последние годы сформулировать такое понятие, как «микробиом грудного молока», и внесло важные дополнения к значимости роли грудного вскармливания при формировании микробиоценоза ребенка.

Различия состава микробиоценоза кишечника у детей, получающих естественное и искусственное вскармливание, показаны как с применением культуральных методов, так и на основании анализа 16S рРНК [105, 106]. Известно, что при грудном вскармливании в биоценозе кишки преобладают *Bacteroides*, а при искусственном — *Firmicutes* и *Verrucomicrobia*. Предполагается, что эти различия во многом обусловлены наличием специфических олигосахаридов в составе грудного молока [107].

Олигосахариды являются линейными полимерами глюкозы и других моносахаров и составляют до 12–14% всех углеводов женского молока, уступая в количественном отношении только лактозе. Представлены преимущественно галактоолигосахаридами (ГОС) и имеют в своем составе D-глюкозу, D-галактозу, N-ацетилглюкозамин, L-фукозу и сиаловую кислоту. Характерным фрагментом является остаток лактозы. Максимальная концентрация олигосахаридов — 20 г/л — определяется в молозиве, в зрелом молоке она снижается до 13 г/л. Многочисленные комбинации соединения мономеров различаются расположением химической связи (α -1,2, α -1,3 или α -1,4) между ними и остатком лактозы. За каждую химическую связь ответственен определенный независимый фермент — фукозилтрансфераза. Поскольку экспрессия гена фукозилтрансферазы гетерогенна, то и состав олигосахаридов грудного молока крайне вариабелен: имеет значительные индивидуальные различия по количеству и качеству и не зависит от диеты матери. Интересно отметить, что грудное молоко женщин после преждевременных родов отличается более высоким содержанием олигосахаридов и особым их составом [108].

Бифидобактерии ЖКТ ребенка способны генетически адаптироваться к питательной среде — гликанам муцинового слоя и олигосахаридам грудного молока [109, 110]. Вероятно, на этапах формирования биоценоза бифидобактерии заселяют кишечный тракт ребенка на условиях конкуренции за пищевые субстраты, и, как уже сообщалось ранее, в дальнейшем наблюдается «совместная эволюция» процесса питания, кишечного микробиоценоза и GALT.

ГОС обладают защитными свойствами: так, посредством бифидогенного действия или за счет прямого связывания инфекционных агентов [111] блокируется связывание специфических патогенов со структурами рецепторов на поверхности клетки, что притормаживает процессы колонизации и роста числа патогенов в течение всего периода грудного вскармливания [111].

В современной литературе можно найти сведения и о том, что сложные углеводы разными путями участвуют в процессах регулирования иммунной реактивности и иммунной толерантности — как опосредованно через кишечную микробиоту, так и оказывая прямой иммуномодулирующий эффект, который реализуется с участием

углеводных структур, которые связываются с «образно-спознающими» рецепторами (Pattern-recognition Receptors, PRR) и могут влиять на иммунную регуляцию, либо с участием короткоцепочечных жирных кислот, которые также способны связываться с рецепторами ассоциированной с кишечником иммунной ткани [112].

Значительная часть положительных эффектов олигосахаридов обусловлена их метаболитами, в первую очередь короткоцепочечными жирными кислотами (фосфоенолпируват, пируват, которые метаболизируются с участием ацетил-КоА до ацетата, бутирата и др.) и аденозинтрифосфата [111, 112]. Продуктами метаболизма кишечных бактерий являются и длинноцепочечные жирные кислоты с их широким спектром биологических эффектов, в том числе и ω -3 жирные кислоты [113], механизмом действия которых является продукция различных групп эйкозаноидов с результатами взаимного влияния. Подавляя активность циклооксигеназы, ω -3 жирные кислоты ингибируют продукцию эйкозаноидов из арахидоновой кислоты [114].

Изучение механизмов прямого влияния олигосахаридов на иммунную функцию показало, что во многом оно осуществляется посредством лектинов — белков и гликопротеинов, обладающих способностью к специфическому связыванию углеводов [111]. Многие лектины могут участвовать в презентировании антигенов, а также в активации или регулировании экспрессии генов, как зависимой от толл-подобных рецепторов (Toll-like Receptor, TLR), так и независимой от них. Лектины «узнают» различные структуры углеводов патогенов и «переводят» закодированную информацию эффекторным клеткам [111, 115, 116]. Сведения о роли лектинов и других сложных углеводов в формировании иммунного ответа, позволяющие значительно расширить представления о роли олигосахаридов в составе грудного молока, подтверждают значимость последнего при формировании микробиоты кишечника ребенка после рождения. Грудное молоко, насыщенное иммунокомпонентами, имеет программирующее влияние на иммунную систему новорожденного и долгосрочное влияние на его здоровье.

Пребиотики в составе молочных смесей

Многочисленные исследования по изучению смесей для искусственного вскармливания с добавлением галакто- и фруктоолигосахаридов (ФОС) свидетельствуют о достижении пребиотического действия [117–119], что подтверждает их эффективность, сравнимую с таковой при грудном вскармливании. На основании существующих результатов исследования экспертами Европейского агентства по безопасности продуктов питания (European Food Safety Authority, EFSA) рекомендовано добавление олигосахаридов в смеси для искусственного вскармливания [119].

В исследованиях с участием более 400 недоношенных и родившихся в срок детей было показано, что смесь пребиотиков сокращает рост патогенных бактерий, а также избирательно стимулирует рост бифидобактерий и лактобацилл в кишечнике. Установлено, что рН кала и профиль содержания в нем короткоцепочечных жирных кислот вследствие изменения кишечной микрофлоры под воздействием пищевых ГОС и ФОС становятся схожими с аналогичными показателями у детей, находящихся на естественном вскармливании [120].

А в широкомасштабном международном исследовании, охватившем 440 здоровых детей, родившихся в срок, из 5 европейских стран, показано, как обогащение молочной смеси комбинацией нейтральных олигосахаридов и пектинпроизводных олигосахаридов помо-

гает снизить риск атопического дерматита — 5,7 и 9,7% у детей основной и контрольной (не получавших олигосахариды) групп соответственно ($p = 0,04$) [121].

Пробиотики

Термин «пробиотики», буквально означающий «за жизнь», возник как альтернатива термину «антибиотики» — «против жизни». Современное определение пробиотиков было дано рабочей группой Всемирной организации здравоохранения в 2001 г. и до сих пор сохраняет свою актуальность [122]: «Пробиотики — это живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма-хозяина». Большинство пробиотиков — это микроорганизмы, относящиеся к типичным представителям нормальной микрофлоры человека — лактобактерии, которые являются факультативными анаэробами, бифидобактерии — облигатные анаэробы [123–125], а также представители субдоминирующих видов — *Streptococcus thermophilus*, *E. faecium*. К микроорганизмам с доказанным пробиотическим эффектом относят также грибы *Saccharomyces boulardii* [125, 126].

При отборе пробиотических штаммов используются четкие критерии безопасности, в соответствии с которыми штаммы должны быть фено- и генотипически классифицируемыми, безопасными, быть кислотоустойчивыми (или бактерии должны быть заключены в кислотоустойчивую капсулу), должна проявляться способность к адгезии к кишечному эпителию и колонизации кишечника, не должны обладать патогенными свойствами [124–126].

К пробиотикам, обладающим доказанной безопасностью и эффективностью, относятся представители рода *Lactobacillus* (*L. acidophilus* — штамм *L. gasseri*; *L. rhamnosus* — штамм *L. rhamnosus* GG; *L. plantarum* — штамм *L. plantarum* 299 v; *L. reuteri*; *L. fermentum* — штамм *L. fermentum* KLD; *L. lactis*; *L. casei* — штамм *L. shirota*; *L. bulgaricum*), рода *Bifidobacterium* (*B. longum* — штамм *B. infantis*; BB536; *B. bifidum*; *B. breve*; *B. adolescentis*; *B. animalis* — штамм *B. lactis* BB12), рода *Streptococcus* (*S. thermophilus*), рода *Enterococcus* (*E. faecium* — штамм *Enterococcus* SF68), рода *Saccharomyces* (*S. boulardii*) [126, 127].

Выбор оптимальных штаммов пробиотика для детей разного возраста зависит от возрастных различий видового состава бифидофлоры [128]. Так, в период новорожденности среди бифидобактерий доминируют *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*; в возрасте 8–11 мес преобладают *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*; у подростков и взрослых чаще выявляются *B. adolescentis*, *B. longum*. Показано, что использование у доношенных новорожденных *B. longum* spp. *infantis* и *B. pseudocatenulatum* обеспечивает в дальнейшем большую стабильность индигенной микробиоты, чем *B. breve* и *B. scardovii* [129].

Также имеют значение период и продолжительность применения пробиотиков: при исследовании процесса формирования микробиоты у недоношенных детей обнаружено, что более или менее стабильная популяция бифидобактерий (преимущественно *B. longum*, а также *B. bifidum* и *B. lactis*) устанавливается только после 33-й нед гестации и не ранее 3 нед после рождения, что объясняется формированием гликолизированных рецепторов эпителия кишки [129].

В составе детских продуктов используются следующие пробиотические штаммы с экспериментально и клинически доказанной эффективностью и безопасностью — *B. lactis* BB12, *B. longum* BB536, *L. rhamnosus* ATCC53103

(LGG), *Lactobacillus casei* DN-114 001, *Lactobacillus reuteri* DSM 17 938.

Искусственно вводимые пробиотические штаммы не способны приживаться в кишечнике на длительный срок, поскольку, как уже отмечалось, состав индигенной флоры во многом определен генетически и основан на тонких иммунных взаимодействиях с макроорганизмом [6, 7]. Однако, положительные эффекты пробиотиков доказаны, и они осуществляются на 3 уровнях [130]:

- в просвете кишечника — за счет конкурентного ингибирования адгезии патогенов, антимикробной активности (продукция органических кислот, бактерицидных веществ, снижение pH кишечного содержимого);
- в кишечном эпителии — увеличение продукции муцина, повышение барьерной функции путем укрепления межклеточных соединений, а также секреции IgA;
- влияние на иммунный ответ путем воздействия на продукцию цитокинов (TNF α , IFN γ , IL 12, IL 4, IL 10), стимуляция врожденного иммунитета, модулирование функции дендритных клеток и моноцитов, увеличение экспрессии Foxp3+ Treg-клеток.

При этом направленность влияния на иммунный ответ различна для разных пробиотиков. Так, *L. casei* служит мощным стимулятором продукции IL 6, IL 12, TNF α и экспрессирует маркеры созревания, тогда как *L. reuteri* является слабым индуктором IL 12 и подавляет секрецию цитокинов и экспрессию маркеров созревания, вызванную другими видами лактобактерий [130]. Часть положительных эффектов пробиотиков обеспечивают их метаболиты [124]. В частности, появились данные о том, что некоторые лактобациллы продуцируют экзополисахариды, усиливающие их влияние на иммунную систему [131].

В проспективном рандомизированном двойном слепом контролируемом клиническом исследовании E. Holmes и соавт. было показано, что бифидобактерии BB12 положительно влияют на иммунитет у детей на искусственном вскармливании. В группе детей, рожденных естественным путем, получавших BB12, уровень sIgA был выше, чем в контрольной группе. У детей, рожденных оперативным методом, и также получавших BB12, был выше уровень антиполиовирусных и антиротавирусных IgA. Авторы сделали вывод, что негативное влияние оперативных родов и искусственного вскармливания на иммунную систему ребенка могут быть уменьшены с помощью введения в рацион бифидобактерий BB12 [132].

Пробиотики в профилактике некротического энтероколита новорожденных

Большое число исследований посвящено эффективности применения пробиотиков с целью профилактики некротического энтероколита (НЭК) новорожденных, который до сих пор занимает одну из лидирующих позиций в смертности среди недоношенных детей и детей с низкой массой тела при рождении. Так, использование комбинированного перорального пробиотика у детей с очень низкой массой тела (рандомизированное контролируемое исследование) позволило обеспечить снижение частоты НЭК в 4 раза (по сравнению с контролем) и предупредить связанные с ним летальные исходы [133].

У недоношенных обычно применяют пробиотики, содержащие *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. В мультицентровых исследованиях использование комбинации *B. bifidum* и *L. acidophilus* позволило сократить частоту НЭК в 3,5 раза, а летальность от него — в 5 раз. Использование пробиотиков снижало частоту любых инфекционно-воспалительных заболеваний, прежде всего сепсиса, у глубоконедоношенных детей и способствовало более раннему переводу на энтеральное питание [134].

Метаанализ 20 рандомизированных и нерандомизированных исследований (более 5000 детей) показал, что применение пробиотиков достоверно сокращает и общую летальность, и частоту НЭК у недоношенных детей [135]. Сокращалась как частота тяжелого НЭК, так и длительность госпитализации.

В настоящее время использование пробиотических препаратов является одной из рекомендованных стратегий профилактики НЭК наряду с грудным вскармливанием [136, 137]. Однако, полученные положительные результаты не могут быть напрямую экстраполированы на детей с экстремально низкой массой тела [138].

Эффективность пробиотиков при антибиотикассоциированной диарее

Большинство опубликованных рандомизированных контролируемых исследований и последующие метаанализы показывают эффективность применения пробиотиков в профилактике антибиотикассоциированной диареи [139], в т.ч. связанной с *C. difficile* [138–140]. При этом наибольшее количество исследований посвящено *Lactobacillus* [138–140]. Важно отметить высокую безопасность пробиотических препаратов — частота побочных реакций не отличалась от плацебо [139]. Поскольку показано, что использование пробиотиков способствует снижению сроков выздоровления больных с острыми энтеритами различного генеза, в разных странах мира указания на их применение включены в клинические рекомендации для педиатров [141, 142].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время не вызывает сомнений то, что микробиоценоз вносит огромный вклад в здоровье чело-

века, участвуя в самых разнообразных процессах, происходящих в организме. Помимо того, новые данные о микроорганизмах, населяющих экологические ниши человека, позволяют обсуждать их влияние на все виды обмена веществ, которые реализуются как непосредственно, так и через метагеном человека, а также их воздействие на нервную и эндокринную системы.

Учитывая, что воздействие микробного фактора на ребенка начинается задолго до его рождения, определенные особенности формирования иммунного ответа и микробиоценоза кишечника дети имеют уже антенатально. В дальнейшем такие неблагоприятные факторы, как недоношенность, оперативное родоразрешение, позднее прикладывание к груди или искусственное вскармливание с рождения, антибиотикотерапия, нарушают тонко отрегулированный природой процесс формирования микробиоты. Наши возможности корректировать процесс колонизации кишечника достаточно ограничены, однако показано, что грудное вскармливание, использование пребиотиков в составе детских молочных смесей, а также применение пробиотиков с доказанной эффективностью дают положительный эффект.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

С.Г. Макарова <http://orcid.org/0000-0002-3056-403X>
М.И. Броева <http://orcid.org/0000-0002-4669-9510>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, et al. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804–810. doi: 10.1038/nature06244.
2. Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J*. 2011;6(1):46–56. doi:10.1038/ismej.2011.85.
3. Goodacre R. Metabolomics of a superorganism. *J Nutr*. 2007;137 Suppl 1:S259–266.
4. Payne MS, Bayatibojakhi S. Exploring preterm birth as a polymicrobial disease: an overview of the uterine microbiome. *Front Immunol*. 2014;5:595. doi: 10.3389/fimmu.2014.00595.
5. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, et al. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011;474(7351):327–336. doi: 10.1038/nature10213.
6. Methe BA, Nelson KE, Pop M, et al. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486(7402):215–221. doi: 10.1038/nature11209.
7. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486(7402):207–214. doi: 10.1038/nature11234.
8. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 2012;488(7410):178–184. doi: 10.1038/nature11319.
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;73(7353):174–180. doi: 10.1038/nature10187.
10. Jeffery IB, Claesson MJ, O'Toole PW, Shanahan F. Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nature Rev Microbiol*. 2012;10(9):591–592. doi: 10.1038/nrmicro2859.
11. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105–108. doi: 10.1126/science.1208344.
12. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. *Микрофлора человека и животных и ее функции*. Т. 1. — М.: ГРАНТЪ; 1998. — 288 с. [Shenderov BA. *Meditinskaya mikrobная ekologiya i funktsional'noe pitanie. Mikroflora cheloveka i zhivotnykh i ee funktsii*. V. 1. Moscow: GRANT; 1998. 288 p. (In Russ).]
13. Backhed F. Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann Nutr Metab*. 2011;58(Suppl 2):44–52. doi: 10.1159/000328042.
14. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, et al. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol*. 2014;28(8):1221–1238. doi: 10.1210/me.2014-1108.
15. Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(44):15718–15723. doi: 10.1073/pnas.0407076101.
16. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 2010;328(5975):228–231. doi: 10.1126/science.1179721.
17. Lyte M. The microbial organ in the gut as a driver of homeostasis and disease. *Med Hypotheses*. 2010;74(4):634–638. doi: 10.1016/j.mehy.2009.10.025.
18. Cooperstock MS, Zedd AJ. *Intestinal flora of infants*. In: Hentges DJ, editor. *Human intestinal microflora in health and disease*. New York: Academic Press; 1983. p. 79–99.
19. Mackie R, Sghir A, Gaskins R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(5):1035s–1045s.
20. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(Suppl 1):4578–4585. doi: 10.1073/pnas.1000081107.

21. Lim MY, Rho M, Song YM, et al. Stability of gut enterotypes in Korean monozygotic twins and their association with biomarkers and diet. *Sci Rep*. 2014;4:7348. doi: 10.1038/srep07348.
22. Simoes CD, Maukonen J, Kaprio J, et al. Habitual dietary intake is associated with stool microbiota composition in monozygotic twins. *J Nutr*. 2013;143(4):417–423. doi: 10.3945/jn.112.166322.
23. Murphy K, O'Shea CA, Ryan CA, et al. The gut microbiota composition in dichorionic triplet sets suggests a role for host genetic factors. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122561. doi: 10.1371/journal.pone.0122561.
24. Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9:279–290. doi: 10.1038/nrmicro2540.
25. Mirpuri J, Raetz M, Sturge CR, et al. Proteobacteria-specific IgA regulates maturation of the intestinal microbiota. *Gut Microbes*. 2014;5(1):28–39. doi: 10.4161/gmic.26489.
26. Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):10–16. doi: 10.1007/s10875-009-9357-x.
27. Salzman NH, Hung K, Haribhai D, et al. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nat Immunol*. 2010;11(1):76–82. doi: 10.1038/ni.1825.
28. Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, et al. Reduced Paneth cell α -defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(50):18129–18134. doi: 10.1073/pnas.0505256102.
29. Wehkamp J, Wang G, Kubler I et al. The Paneth cell α -defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4. *J Immunol*. 2007;179(5):3109–3118. doi: 10.4049/jimmunol.179.5.3109.
30. Barbosa T, Rescigno M. Host bacteria interactions in the intestine: homeostasis to chronic inflammation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010;2(1):80–97. doi: 10.1002/wsbm.48.
31. De Palma G, Capilla A, Nadal I, et al. Interplay between human leukocyte antigen genes and the microbial colonization process of the newborn intestine. *Curr Issues Mol Biol*. 2010;12(1):1–10.
32. Khachatryan ZA, Ktsoyan ZA, Manukyan GP, et al. Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota. *PLoS One*. 2008;3(8):e3064. doi: 10.1371/journal.pone.0003064.
33. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature*. 2008;455(7216):1109–1113. doi: 10.1038/nature07336.
34. Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, et al. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(1):179–184. doi: 10.1002/ibd.21339.
35. Romano-Keeler J, Weitkamp JH. Maternal influences on fetal microbial colonization and immune development. *Pediatr Res*. 2015;77(1–2):189–195. doi: 10.1038/pr.2014.163.
36. Greenblum S, Turnbaugh PJ, Borenstein E. Metagenomic systems biology of the human gut microbiome reveals topological shifts associated with obesity and inflammatory bowel disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(2):594–599. doi: 10.1073/pnas.1116053109.
37. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, et al. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(Suppl 2):S112–S119. doi: 10.2337/dc07-s202.
38. Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes*. 2002;51(7):2207–2213. doi: 10.2337/diabetes.51.7.2207.
39. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:415–445. doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101322.
40. Nelson SM, Matthews P, Poston L. Maternal metabolism and obesity: modifiable determinants of pregnancy outcome. *Hum Reprod Update*. 2010;16(3):255–275. doi: 10.1093/humupd/dmp050.
41. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012;150(3):470–480. doi: 10.1016/j.cell.2012.07.008.
42. Mukhopadhyay I, Hansen R, El-Omar EM, Hold GL. IBD-what role do Proteobacteria play? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(4):219–230. doi: 10.1038/nrgastro.2012.14.
43. van Nimwegen FA, Penders J, Stobberingh EE, et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(5):948–955. doi: 10.1016/j.jaci.2011.07.027.
44. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222–227. doi: 10.1038/nature11053.
45. Harris JW, Brown H. Bacterial content of the uterus at cesarean section. *Am J Obstet Gynecol*. 1927;13(2):133–143. doi: 10.1016/s0002-9378(27)90506-7.
46. DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012;17(1):2–11. doi: 10.1016/j.siny.2011.10.001.
47. Mendz GL, Kaakoush NO, Quinlivan JA. Bacterial aetiological agents of intra- amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;3:58. doi: 10.3389/fcimb.2013.00058.
48. Perez PF, Dore J, Leclerc M, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*. 2007;119(3):e724–e732. doi: 10.1542/peds.2006-1649.
49. Rescigno M, Rotta G, Valzasina B, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology*. 2001;204(5):572–581. doi: 10.1078/0171-2985-00094.
50. Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*. 2004;303(5664):1662–1665. doi: 10.1126/science.1091334.
51. Lelouard H, Fallet M, de Bovis B, et al. Peyer's patch dendritic cells sample antigens by extending dendrites through M cell-specific transcellular pores. *Gastroenterology*. 2012;142(3):592–601.e3. doi: 10.1053/j.gastro.2011.11.039.
52. Jang MH, Kweon MN, Iwatani K, et al. Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(16):6110–6115. doi: 10.1073/pnas.0400969101.
53. McDole JR, Wheeler LW, McDonald KG, et al. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103+ dendritic cells in the small intestine. *Nature*. 2012;483(7389):345–349. doi: 10.1038/nature10863.
54. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(27):12204–12209. doi: 10.1073/pnas.0909122107.
55. Weitkamp JH, 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;62(1):73–82. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301551.
56. Dingle BM, Liu Y, Fatheree NY, et al. FoxP3+ regulatory T cells attenuate experimental necrotizing enterocolitis. *PLoS One*. 2013;8(12):e82963. doi: 10.1371/journal.pone.0082963.
57. Prescott SL, Wickens K, Westcott L, et al. Probiotic Study Group. Supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* or *Bifidobacterium lactis* probiotics in pregnancy increases cord blood interferon-gamma and breast milk transforming growth factor-beta and immunoglobulin A detection. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(10):1606–1614. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03061.x.
58. Combs CA, Gravett M, Garite TJ, et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(2):125.e1–125.e15. doi: 10.1016/j.ajog.2013.11.032.
59. Cassell GH, Davis RO, Waites KB, et al. Isolation of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* from amniotic fluid at 16–20 weeks of gestation: potential effect on outcome of pregnancy. *Sex Transm Dis*. 1983;10(Suppl 4):294–302.
60. Hillier SL, Martius J, Krohn M, et al. A case control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med*. 1988;319(15):972–978. doi: 10.1056/nejm198810133191503.
61. Gantert M, Jellema RK, Heineman H, et al. Lipopolysaccharide-induced chorioamnionitis is confined to one amniotic compartment in twin pregnant sheep. *Neonatology*. 2012;102(2):81–88. doi: 10.1159/000338015.
62. Kemp MW, Saito M, Nitsos I, et al. Exposure to in utero lipopolysaccharide induces inflammation in the fetal ovine skin. *Reprod Sci*. 2011;18(1):88–98. doi: 10.1177/1933719110380470.
63. Abdulkadir AA, Kimimasa T, Bell MJ, et al. Placental inflammation and fetal hemodynamics in a rat model of chorioamnionitis. *Pediatr Res*. 2010;68(6):513–518. doi: 10.1203/pdr.0b013e3181f851ed.
64. Martinez-Lopez DG, Funderburg NT, Cerissi A, et al. Lipopolysaccharide and soluble CD14 in cord blood plasma are associated with prematurity and chorioamnionitis. *Pediatr Res*. 2014;75(1–1):67–74. doi: 10.1038/pr.2013.182.

65. Scheifele DW, Fussell S, Olsen E. Bacterial endotoxins in umbilical cord blood of neonates. *Biol Neonate*. 1984;45(3):119–124. doi: 10.1159/000241885.
66. Gardella C, Hitti J, Martin TR, et al. Amniotic fluid lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 as mediators of the inflammatory response in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(6):1241–1248. doi: 10.1067/mob.2001.113908.
67. Tapping RI, Tobias PS. Soluble CD14 mediated cellular responses to lipopolysaccharide. *Chem Immunol*. 2000;74:108–121. doi: 10.1159/000058751.
68. Takahashi N, Uehara R, Kobayashi M, et al. Cytokine profiles of seventeen cytokines, growth factors and chemokines in cord blood and its relation to perinatal clinical findings. *Cytokine*. 2010;49(3):331–337. doi: 10.1016/j.cyto.2009.11.024.
69. Goepfert AR, 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(4):1375–1381. doi: 10.1016/j.ajog.2004.06.086.
70. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179(1):194–202. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70272-8.
71. Doyle RM, Alber DG, Jones HE, et al. Term and preterm labour are associated with distinct microbial community structures in placental membranes which are independent of mode of delivery. *Placenta*. 2014;35(12):1099–1101. doi: 10.1016/j.placenta.2014.10.007.
72. Jimenez E, Marin ML, Martin R, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol*. 2008;159(3):187–193. doi: 10.1016/j.resmic.2007.12.007.
73. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS One*. 2014;9(3):e90784. doi: 10.1371/journal.pone.0090784.
74. Moles L, Gomez M, Heilig H, et al. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. *PLoS One*. 2013;8(6):e66986. doi: 10.1371/journal.pone.0066986.
75. Feng T, Elson CO. Adaptive immunity in the host-microbiota dialog. *Mucosal Immunol*. 2011;4(1):15–21. doi: 10.1038/mi.2010.60.
76. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(5):1046S–1051S.
77. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15451–15455. doi: 10.1073/pnas.202604299.
78. Weng M, Walker WA. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J Dev Orig Health Dis*. 2013;4(3):203–214. doi: 10.1017/s2040174412000712.
79. Chen Y, Inobe J, Marks R, et al. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature*. 1995;376(6536):177–180. doi: 10.1038/376177a0.
80. Макарова С.Г., Болдырева М.Н., Лаврова Т.Е., Петровская М.И. Кишечный микробиоценоз, пищевая толерантность и пищевая аллергия. Современное состояние проблемы // *Вопросы современной педиатрии*. — 2014. — Т. 13. — № 3. — С. 21–29. [Makarova SG, Boldyreva MN, Lavrova TYe, Petrovskaya MI. Intestinal microbiocenosis, food tolerance and food allergy. Current state of a problem. *Current pediatrics*. 2014;13(3):21–29. (In Russ).] doi: 10.15690/vsp.v13i3.1024.
81. Levy O, Zarembka KA, Roy RM. Selective impairment of TLR-mediated innate immunity in human newborns: neonatal blood plasma reduces monocyte TNF-alpha induction by bacterial lipopeptides, lipopolysaccharide, and imiquimod, but preserves the response to R-848. *J Immunol*. 2004;173(7):4627–4634. doi: 10.4049/jimmunol.173.7.4627.
82. Mshvildadze M, Neu J. The infant intestinal microbiome: friend or foe? *Early Hum Dev*. 2010;86(1 Suppl):67–71. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.018.
83. Duffy LC. Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine. *J Nutr*. 2000;130:432S–436S.
84. Schwiertz A, Gruhl B, Lobnitz M. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breastfed, full term infants. *Pediatr Res*. 2003;54(3):393–399. doi: 10.1203/01.pdr.0000078274.74607.7a.
85. Millar MR, Linton CJ, Cade A. Application of 16S rRNA gene PCR to study bowel flora of preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *J Clin Microbiol*. 1996;34(10):2506–2510.
86. Jacquot A, Neveu D, Aujoulat F. Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. *J Pediatr*. 2011;158(3):390–396. doi: 10.1016/j.jpeds.2010.09.007.
87. Morowitz MJ, Deneff VJ, Costello EK. Strain-resolved community genomic analysis of gut microbial colonization in a premature infant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(3):1128–1133. doi: 10.1073/pnas.1010992108.
88. Rouge C, Goldenberg O, Ferraris L. Investigation of the intestinal microbiota in preterm infants using different methods. *Anaerobe*. 2010;16(4):362–370. doi: 10.1016/j.anaerobe.2010.06.002.
89. Milisavljevic V, Garg M, Vuletic I, et al. Prospective assessment of the gastroesophageal microbiome in VLBW neonates. *BMC Pediatrics*. 2013;13:49. doi: 10.1186/1471-2431-13-49.
90. Huurre A, Kalliomaki M, Rautava S, et al. Mode of delivery — effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology*. 2008;93(4):236–240. doi: 10.1159/000111102.
91. Azad MB, Konya T, Maughan H, et al. CHILD Study Investigators. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ*. 2013;185:385–394. doi: 10.1503/cmaj.121189.
92. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(26):11971–11975. doi: 10.1073/pnas.1002601107.
93. Laubereau B, Filipiak-Pittroff B, von Berg A, et al. Caesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis and sensitization during the first year of life. *Arch Dis Child*. 2004;89:993–997. doi: 10.1136/adc.2003.043265.
94. Renz-Polster H, David MR, Buist AS, et al. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(11):1466–1472. doi: 10.1111/j.1365-2222.2005.02356.x.
95. Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, et al. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(4):629–633. doi: 10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x.
96. Kristensen K, Henriksen L. Cesarean section and disease associated with immune function. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(2):587–590. doi: 10.1016/j.jaci.2015.07.040.
97. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(2):343–350. doi: 10.1016/j.jaci.2007.05.018.
98. Hall MA, Cole CB, Smith SL, et al. Factors influencing the presence of faecal lactobacilli in early infancy. *Arch Dis Child*. 1990;65(2):185–188. doi: 10.1136/adc.65.2.185.
99. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, et al. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clin Nutr*. 2006;25(3):361–368. doi: 10.1016/j.clnu.2006.03.002.
100. Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(11):5811–5820. doi: 10.1128/aac.00789-12.
101. Bonnemaïson E, Lanotte P, Cantagrel S, et al. Comparison of fecal flora following administration of two antibiotic protocols for suspected maternofetal infection. *Biol Neonate*. 2003;84(4):304–310. doi: 10.1159/000073639.
102. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C. Long term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J*. 2007;1(1):56–66. doi: 10.1038/ismej.2007.3.
103. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, et al. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics*. 2012;130(4):e794–e803. doi: 10.1542/peds.2011-3886.
104. Martin R, Langa S, Reviriego C, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. 2003;143(6):754–758. doi: 10.1016/j.jpeds.2003.09.028.
105. Murgas Torrazza R, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. *J Perinatol*. 2011;31(Suppl 1):S29–S34. doi: 10.1038/jp.2010.172.

106. Heinig MJ. Host defense benefits of breastfeeding for the infant. Effect of breastfeeding duration and exclusivity. *Pediatr Clin North Am.* 2001;48(1):105–123. doi: 10.1016/s0031-3955(05)70288-1.
107. Sharon M, Wang DM, Li M, et al. Host microbe interactions in the neonatal intestine: role of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr.* 2012;3(3):450–455. doi: 10.3945/an.112.001859.
108. De Leoz ML, Gaerlan SC, Strum JS. Lacto-N-tetraose, fucosylation, and secretor status are highly variable in human milk oligosaccharides from women delivering preterm. *J Proteome Res.* 2012;11(9):4662–4672. doi: 10.1021/pr3004979.
109. Turroni F, Milani C, van Sinderen D, Ventura M. Genetic strategies for mucin metabolism in *Bifidobacterium bifidum* PRL2010: an example of possible human-microbe co-evolution. *Gut Microbes.* 2011;2(3):183–189. doi: 10.4161/gmic.2.3.16105.
110. Sela DA, Chapman J, Adeuya A, et al. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* reveals adaptations for milk utilization within the infant microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(48):18964–18969. doi: 10.1073/pnas.0809584105.
111. Frei R, Lauener RP, Cramer R, O'Mahony L. Microbiota and dietary interactions — an update to the hygiene hypothesis? *Allergy.* 2012;67(4):S451461. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02783.x.
112. Cummings JH, Macfarlane GT. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br J Nutr.* 2002;87(Suppl 2):S145–S151. doi: 10.1079/bjn/2002530.
113. Russel FD, Burgin-Maudner CS. Distinguishing health benefits of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Mar Drugs.* 2012;10(11):2535–2559. doi: 10.3390/md10112535.
114. Field C, Van Aerde J, Robinson L, Clandinin MT. Effect of providing a formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids on immunity in full term neonates. *Br J Nutrition.* 2008;99(1):91–99. doi: 10.1017/s0007114507791845.
115. Erbacher A, Gieseke F, Handgretinger R, Muller I. Dendritic cells: functional aspects of glycosylation and lectins. *Hum Immunol.* 2009;70(5):308–312. doi: 10.1016/j.humimm.2009.02.005.
116. de Kivit S, Kraneveld AD, Garssen J, Willemsen LEM. Glycan recognition at the interface of the intestinal immune system: target for immune modulation via dietary components. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(Suppl 1):S124–S132. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.05.086.
117. Конь И.Я., Куркова В.И., Абрамова Т.В., и др. Результаты мультицентрового исследования клинической эффективности сухой адаптированной молочной смеси с пищевыми волокнами в питании детей первого года жизни // *Вопросы практической педиатрии.* — 2010. — Т.5. — №2. — С. 29–37. [Kon' IYa, Kurkova VI, Abramova TV, et al. Results of a multi-centered study of the clinical efficacy of a powdered adapted fiber-containing milk formula in nutrition of infants of the first year of life. *Problems of practical pediatrics.* 2010;5(2):29–37. (In Russ).]
118. Rao S, Srinivasjois R, Patole S. Prebiotic supplementation in full-term neonates: a systematic review of randomized controlled trials. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009;163(8):755–764. doi: 10.1001/archpediatrics.2009.94.
119. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy EFSA Journal. 2014;12(7):3760
120. Бозм Г, Моро Г, Фанаро С., и др. Содержание галактоолигосахаридов как пребиотиков в смесях для искусственного вскармливания. *Вопросы детской диетологии.* — 2005. — Т. 3. — № 4. — С. 29–37. [Boehm G, Moro G, Fanaro S, et al. Galacto-oligosaccharides and long chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: a review. *Problems of pediatric nutrition.* 2005;3(4):29–37. (In Russ).]
121. Gruber C, van Stuijvenberg M, Mosca F, et al. Reduced occurrence of early atopic dermatitis because of immunoactive prebiotics among low atopy risk infants. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(4):791–797. doi: 10.1016/j.jaci.2010.07.022.
122. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: Report of a Joint FAO WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba; 2001. 34 p.
123. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. *Probiotics: an overview of beneficial effects.* In: R.J. Siezen, J. Kok, T. Abbe, G. Schasfsma, editors. *Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications.* Springer Netherlands; 2002. pp. 279–289. doi: 10.1007/978-94-017-2029-8_18.
124. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. *Digest Liver Dis.* 2002;34(Suppl 2):S2–S7. doi: 10.1016/s1590-8658(02)80155-4.
125. McFarland. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(4):812–822. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00465.x.
126. Корниенко Е.А. Современные принципы выбора пробиотиков // *Детские инфекции.* — 2007. — Т.6. — №3. — С. 64–69. [Kornienko EA. Modern principles of selecting suitable probiotics. *Detskie infektsii.* 2007;6(3):64–69. (In Russ).]
127. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(Suppl 2):365–373.
128. Favier CF, de Vos WM, Akkermans AD. Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe.* 2003;9(5):219–229. doi: 10.1016/j.anaerobe.2003.07.001.
129. Butel MJ, Suau A, Campeotto F, et al. Conditions of bifidobacterial colonization in preterm infants: a prospective analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;44(5):577–582. doi: 10.1097/mpg.0b013e3180406b20.
130. Rijkers GT, Bengmark S, Enck P, et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research. *J Nutr.* 2010;140(3):671–676. doi: 10.3945/jn.109.113779.
131. Patten DA, Laws AP. Lactobacillus produced exopolysaccharides and their potential health benefits: a review. *Benef Microbes.* 2015;6(4):457–471. doi: 10.3920/bm2014.0117.
132. Holmes E, Kinross J, Gibson GR, et al. Therapeutic modulation of microbiota-host metabolic interactions. *Sci Transl.* 2012;4(137):137rv6. doi: 10.
133. Lin HC, Su BH, Chen AC, et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 2008;122(4):693–700. doi: 10.1542/peds.2007-3007.1126/scitranslmed.3004244.
134. Szajewska H, Guandalini S, Morelli L, et al. Effect of *bifidobacterium animalis* subsp *lactis* supplementation in preterm infants: a systematic review of randomized controlled trials. *JPGN.* 2010;51(2):203–209. doi: 10.1097/mpg.0b013e3181dc0d93.
135. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;9(3):584–671. doi: 10.1002/ebch.1976.
136. Hoyos AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis.* 1999;3(4):197–202. doi: 10.1016/s1201-9712(99)90024-3.
137. Millar M, Wilks M, Costeloe K. Probiotics for preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88(5):F354–F358. doi: 10.1136/fn.88.5.F354.
138. Versalovic J. The human microbiome and probiotics: Implications for pediatrics. *Ann Nutr Metab.* 2013;63(Suppl 2):42–52. doi: 10.1159/000354899.
139. Issa I, Moucari R. Probiotics for antibiotic-associated diarrhea: Do we have a verdict? *World J Gastroenterol.* 2014;20(47):17788–17795. doi: 10.3748/wjg.v20.i47.17788
140. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* -associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;5(5):CD006095. doi: 10.1002/14651858.cd006095.pub3.
141. Piescik-Lech M, Shamir R, Guarino A, Szajewska H. Review article: the management of acute gastroenteritis in children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;37(3):289–303. doi: 10.1111/apt.12163.
142. Thomas DW, Greer FR. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics.* 2010;126(6):1217–1231. doi: 10.1542/peds.2010-2548.