

И.А. Беляева, Е.П. Бомбардинова, М.Д. Митиш, Т.В. Потехина, Н.А. Харитоновна

Национальный научно-практический центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

Онтогенез и дизонтогенез микробиоты кишечника у детей раннего возраста: триггерный механизм нарушений детского здоровья

Контактная информация:

Беляева Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор РАН, профессор кафедры РНИМУ им. Н.И. Пирогова, заведующая отделением для недоношенных детей ННПЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-15-19, e-mail: belyaeva@nczd.ru

Статья поступила: 17.02.2017 г., принята к печати: 27.02.2017 г.

В статье представлен анализ исследований, в которых изучались становление и развитие микрофлоры (микробиоты) кишечника у детей и ее патогенетическая роль. Приведено описание этапов колонизации кишечника младенца, механизмов взаимовлияния микробиот младенца и матери. Показана связь динамики становления микробиоты ребенка с характером вскармливания; отмечена саногенетическая роль грудного вскармливания в отношении микрофлоры младенца. Представлены связь качественных и количественных характеристик микробиоты с отсроченными рисками развития метаболических и аллергических заболеваний. Особое внимание уделено анализу влияния антибиотиков на становление микробиоты, в том числе у недоношенных детей. В статье представлены современные подходы к коррекции нарушений кишечной микробиоты препаратами-пробиотиками, обоснованы методы выбора пробиотиков. Одним из таких препаратов является зарегистрированный в России пробиотик, содержащий *Bifidobacterium lactis BB-12* и *Streptococcus thermophilus*, который успешно используется для коррекции дисбиоза у новорожденных младенцев, в т.ч. у недоношенных.

Ключевые слова: микробиота кишечника, новорожденные, младенцы, грудное вскармливание, пробиотики.

(Для цитирования: Беляева И.А., Бомбардинова Е.П., Митиш М.Д., Потехина Т.В., Харитоновна Н.А. Онтогенез и дизонтогенез микробиоты кишечника у детей раннего возраста: триггерный механизм нарушений детского здоровья. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16 (1): 29–38. doi: 10.15690/vsp.v16i1.1692)

ВВЕДЕНИЕ

Микрофлора кишечника является одним из основных факторов, определяющих состояние здоровья человека. В процессе эволюции за ним закрепились роль охранительной системы в отношении повреждающих факторов внешней среды [1, 2]. За тысячелетия эволюции макро- и микроорганизмов сформировалась сложная экосистема кишечной микробиоты, в которую входят

комменсалы и/или симбионты [3, 4]. Микробиота кишечника поддерживает тонкое равновесие и осуществляет модулирование саногенетических иммунных реакций у макроорганизма.

Современные молекулярно-генетические методы позволяют по-новому оценить качественные и количественные характеристики кишечной микробиоты (микробиома), их связи с различной патологией и про-

Irina A. Belyaeva, Elena P. Bombardirova, Maria D. Mitish, Tatyana V. Potekhina, Natalia A. Kharitonova

National Scientific and Practical Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

Ontogenesis and Dysontogenesis of the Gut Microbiota in Young Children: a Trigger Mechanism of Child Health Disorders

The article analyzes the studies of the formation and development of the gut microflora (microbiota) in children and its pathogenetic role. The stages of colonization of the infant's intestine and the interaction mechanisms between the child's and mother's microbiotas are described. The relationship between the formation dynamics of the child's microbiota and the nature of feeding is shown; a sanogenetic role of breastfeeding in relation to the infant's microflora is noted. The connection of qualitative and quantitative microbiota characteristics with delayed risks of development of metabolic and allergic diseases is described. Particular attention is paid to the analysis of the effect of antibiotics on the formation of microbiota, including in preterm infants. The article describes current approaches to the correction of the gut microbiota disorders with probiotic preparations and substantiates the methods for choosing probiotics. One of these preparations is a probiotic registered in Russia and containing *B. lactis BB-12* and *S. thermophilus*, which is successfully used to correct dysbiosis in newborn infants, including in preterm infants.

Key words: gut microbiota, newborns, infants, breastfeeding, probiotics.

(For citation: Belyaeva Irina A., Bombardirova Elena P., Mitish Maria D., Potekhina Tatyana V., Kharitonova Natalia A. Ontogenesis and Dysontogenesis of the Gut Microbiota in Young Children: a Trigger Mechanism of Child Health Disorders. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics*. 2017; 16 (1): 29–38. doi: 10.15690/vsp.v16i1.1692)

цессами саногенеза, например с так называемой дорожной картой микробиома человека [5]. Комплексные исследования позволяют проводить анализ микробиоты человека в режиме реального времени, создавать пространственно-временные модели патологических состояний с участием микрофлоры [6]. Усилия ученых были сосредоточены преимущественно на систематизации микробиома взрослого человека и изучении его связей с тяжелыми заболеваниями [7–9]. Анализ микробиоты у детей был ограничен возможностями исследований и малыми объемами выборки [10–12], поэтому факторы формирования микрофлоры младенца остаются недостаточно изученными.

Известно, что организм человека колонизирован комбинированными микробными популяциями, различными в зависимости от локуса (например, полость рта, глотка; дыхательная система, кожа, желудочно-кишечный и урогенитальный тракты), при этом многие эффекты сложных взаимодействий между организмом хозяина и микробными симбионтами еще не изучены полностью. Простая идентификация отдельных микробов или микробных генотипов часто не проясняет их фенотипическую экспрессию [10]. Таким образом, в дополнение к технологиям, основанным на идентификации микробиома, важно выяснить функции микробных сообществ, обитающих в определенной нише. Это представляет интерес для идентификации мРНК и экспрессии белка микробных генов, а также метаболитов, которые являются результатом взаимодействия микробов с организмом хозяина. Для расширения исследований микробиома применяются новые дисциплины — метатранскриптомика, метапротеомика и метаболомика, что позволяет идентифицировать продукты экспрессии генов (мРНК), белков и метаболитов, продуцируемых в сложном микробном сообществе, например в фекалиях [12].

Согласно современным представлениям, здоровая микрофлора характеризуется высоким разнообразием и способностью сопротивляться изменениям под влиянием физиологического стресса. В противоположность этому микрофлора при заболеваниях имеет сниженное видовое разнообразие, в ней меньше «полезных» микробов и/или имеются патобионты [13]. Дисбиоз желудочно-кишечного тракта считается одним из самых важных факторов, влияющих на развитие многих желудочно-кишечных заболеваний, таких как воспалительные болезни кишечника, синдром раздраженной толстой кишки, рак ободочной и прямой кишки, а также системных заболеваний, таких как ожирение, сахарный диабет, атеросклероз и неалкогольный жировой гепатоз [14, 15].

В последние годы установлены достоверные связи между нарушениями качественного и количественного состава микробиоты кишечника с разнообразной неинфекционной патологией, прежде всего с патологией обмена веществ и аутоиммунными заболеваниями. Многие из этих заболеваний приобретают особую медико-социальную значимость уже у детей школьного возраста и далее в старших возрастных группах [16, 17].

Выполнены экспериментальные исследования, позволяющие уточнить роль изменений кишечной микробиоты, начиная с детского возраста, в патогенезе последующих эндокринно-метаболических расстройств, что позволяет использовать характеристики микробиоты

желудочно-кишечного тракта в качестве предикторов метаболических нарушений, прежде всего избыточного веса [14, 17].

В эксперименте установлена важная роль кишечной микробиоты в патогенезе метаболического синдрома [17]. Так, отмечено, что нестерильные мыши имеют на 42% больше общего жира в организме и на 47% больше жира в гонадах, чем стерильные особи. По-видимому, присутствие микробиоты само по себе повышает использование энергии из рациона организма хозяина. Колонизация стерильных мышей кишечной микробиотой от обычных мышей приводит к 60% увеличению жировой массы тела, что связано с повышенной резистентностью к инсулину, несмотря на снижение потребления энергии в рационе [18, 19]. Эти же исследователи показали, что трансплантация фекалий с микробиотой мышей с ожирением приводит к значительному увеличению общего жира в организме, чем колонизация микробиоты от доноров без ожирения [20].

В период беременности микробиота женщины подвергается существенным изменениям; характер микрофлоры может быть связан с отдаленными рисками метаболических нарушений. В эксперименте установлено, что микробиота кишечника беременной женщины в третьем триместре резко изменяется по сравнению с первым и характеризуется снижением общего разнообразия и увеличением протео- и актинобактерий [20]. При переносе микробиоты беременной женщины стерильным мышам-реципиентам у последних происходит изменение обмена веществ, аналогичное по направленности метаболическому синдрому. Подобная картина не наблюдается при переносе стерильным мышам микробиоты, выделенной у беременных женщин в первом триместре [21]. Онтогенетический смысл изменений характера кишечной микробиоты во время беременности приспособительный: изменение направленности метаболизма в интересах внутриутробного ребенка.

РОЛЬ ИЗМЕНЕНИЙ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Еще в начале 2000-х гг. было высказано предположение, что различия в составе кишечной микробиоты в неонатальном периоде могут предшествовать развитию атопии [22].

Основные паттерны неонатальной кишечной микрофлоры у детей, впоследствии развивших/не развивших атопию в раннем детском возрасте, имеют отличия. Так, M. Kalliomaki и соавт. была изучена кишечная микробиота 76 детей с высоким риском развития атопических заболеваний в возрасте 3 нед и 3 мес жизни [22]. В возрасте 12 мес у этих же пациентов произвели аллергические тесты: дети, показавшие по меньшей мере одну положительную реакцию прик-теста, были расценены как группа с атопией, не имевшие положительной реакции — как группа без атопии. Атопическая сенсibilизация наблюдалась у 29% детей. Дети с атопией имели больше клостридий ($9,3 \times 10^7$ против $3,3 \times 10^7$ КОЕ/мл) и меньше бифидобактерий ($1,8 \times 10^9$ против $6,1 \times 10^9$ КОЕ/мл) в кишечной микробиоте, чем младенцы без атопии [23]. Таким образом, было показано, что особенности состава ранней кишечной микробиоты связаны с онтогенезом иммунной системы и различной предрасположенностью к атопии.

Развитие новых молекулярно-генетических технологий позволило более детально изучить состав кишечной микробиоты в раннем детстве, установить, что микробиота кишечника влияет на онтогенез иммунной системы и развитие аллергии, и даже выявить конкретные состояния кишечной микробиоты, приводящие к развитию атопии. Так, в исследовании, опубликованном в 2016 г. в журнале *Nature* [23], оценивалась взаимосвязь состояния микробиоты кишечника у младенцев в возрасте 1–3 мес с развитием атопии (в т.ч. бронхиальной астмы) после достижения двухлетнего возраста. Установлено достоверное снижение уровней *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* и *Akkermansia* и более высокие уровни некоторых грибов у детей, развивавших впоследствии аллергические состояния; выделено 3 варианта состава кишечной микробиоты, связанных с последующей различной степенью алергизации детей (риском аллергии, чувствительностью только к одному или к нескольким алергенам) через механизмы «перепрограммирования» дифференцировки Т-клеток. Так, у младенцев, развивших поливалентную аллергию в возрасте 2 лет, состояние кишечной микробиоты в 1 мес жизни характеризовалось более низкими уровнями кишечных бактерий, особенно *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* и *Akkermansia*, и более высокими уровнями некоторых грибов, включая *Candida* и *Rhodotorula*. У 4 детей в возрасте 4 лет была диагностирована астма: выявлено, что снижение одних и тех же (из четырех представленных выше) типов бактерий в микробиоте в трехмесячном возрасте можно признать предикторами астмы в старшем возрасте. Кроме того, установлено, что дети, имеющие кишечную микробиоту, связанную с повышенным риском поливалентной аллергии и астмы, характеризовались особым метаболическим профилем, отличным от профиля микробиоты кишечника у детей с более низким риском развития аллергии [24].

В исследовании *in vitro* иммунные клетки от здоровых взрослых доноров были смешаны со стерильными растворами, содержащими метаболиты из перемешанных образцов микробиоты, связанных с риском последующей аллергии и астмы. При этом культура иммунных клеток приобрела свойства Т-хелперов 2-го типа, связанных с аллергией. Метаболиты также снижали процент Т-регуляторных клеток, которые подавляют аллергические реакции. Авторами определен специфический липид, названный 12,13-DiHOME, который содержался в микробиоте новорожденных с высоким риском развития аллергии. Одного этого липида было достаточно, чтобы подавить «группу Т-клеток, необходимых для предотвращения аллергической реакции» [24]. Таким образом, микробоассоциированные метаболиты неонатальной кишечной микробиоты могут представлять собой важный «драйвер» фенотипа иммунных клеток в раннем возрасте, связанный с отсроченным развитием болезни.

РОЛЬ ИЗМЕНЕННОЙ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОЖИРЕНИЯ

Распространение метаболических заболеваний, в т.ч. ожирения, в большинстве промышленно развитых стран предопределило необходимость углубленных исследований этиопатогенетических факторов этой патологии [25, 26]. С одной стороны, были установлены вариан-

ты генотипов, способствующие манифестации нарушений обмена [27]. С другой — ожирение справедливо относят к многофакторным заболеваниям, при которых наследственная предрасположенность реализуется лишь при сочетанном воздействии эпигенетических факторов (факторов среды) [28].

Общеизвестна роль особенности питания в развитии метаболических расстройств (прежде всего ожирения), однако остаются недостаточно расшифрованными механизмы, через которые эта роль реализуется. Одним из таких механизмов, как установлено в последние годы, являются особенности микробиоты кишечника [29]. Так, было установлено, что у животных с ожирением на 50% было сокращено представительство *Bacteroidetes* и настолько же увеличено количество *Firmicutes* [30]. Однако исследования у человека не подтвердили такой характер изменений. В последние годы M. Kalliomaki и соавт. показали, что некоторые изменения микробиоты у детей могут быть ранними предикторами развития ожирения в последующие годы [31]. При оценке с помощью современных молекулярно-генетических методик (в т.ч. проточной цитометрии) у детей, впоследствии развивших ожирение, установлено сниженное количество бифидобактерий в кишечной микробиоте. Роль изменений других составляющих микрофлоры в развитии ожирения требует дальнейшего изучения.

При ограничении калорийности питания и клинически явном уменьшении ожирения (потере веса) в микробиоте пациентов отмечено увеличение содержания *Bacteroidetes* [32] и увеличение бактериального разнообразия микробиоты [33].

СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОБИОТЫ, НАЧИНАЯ С ВНУТРИУТРОБНОГО ПЕРИОДА

В течение многих десятилетий предполагали, что кишечник новорожденного стерилен. Эти предположения строились на основе результатов культуральных исследований. Использование молекулярно-генетических методов (в частности, полимеразной цепной реакции) позволило обнаружить большое разнообразие микроорганизмов в меконии; преобладающие бактерии в меконии — *Staphylococcus*, *Enterobacteria*. Таким образом, меконий не стерилен в связи с внутриутробной микробной колонизацией желудочно-кишечного тракта [34]. Современные методики позволили обнаружить наличие микробов в амниотической жидкости (без разрыва оболочки плодного пузыря). Таким образом, микроорганизмы амниотической жидкости способны колонизировать кишечник еще внутриутробно; кроме того, обнаружены корреляции между степенью микробной колонизации и продолжительностью гестации [35].

В последние годы подтверждено, что колонизация кишечника человека может быть начата определенными микробными сообществами *in utero* — в плаценте и амниотической жидкости [36]. Так, авторы изучали антенеонатальную микробную передачу и кишечную колонизацию на примере 15 пар мать–ребенок; все дети были рождены в срок путем кесарева сечения. Были собраны образцы амниотической жидкости, плаценты, молозива, мекония, фекалий матери и новорожденных на 3–4-е сут жизни. Отмечено, что плацента и амниотическая жидкость имеют особую микробиоту, которая отличается низким разнообразием и преобладанием протеобакте-

рий. Общие характеристики микробиоты, обнаруженной в плаценте, амниотической жидкости и меконии, предполагают микробную передачу от матери к плоду. В возрасте 3–4 сут кишечная микробиота младенца начинает напоминать микробиоту, обнаруженную в молозиве. Таким образом, ступенчатый процесс микробной колонизации кишечника может быть инициирован уже внутриутробно микробиотой, присутствующей в плаценте и амниотической жидкости. Бактериальный трансфер от матери к внутриутробному ребенку может представлять новую мишень для разработки мер, направленных на снижение риска неинфекционных заболеваний путем модуляции взаимодействий хозяин–микроб в раннем онтогенезе.

В последние годы установлена значимость способа родоразрешения в определении характера микробной колонизации младенца. Так, по данным M. G. Dominguez-bello и соавт., у новорожденных после естественных родов (*per vias naturalis*) кишечная микробиота сходна с микрофлорой влагалища матери (преобладает род *Bifidobacterium* — *B. longum* и *B. catenulatum* spp.), тогда как после кесарева сечения кишечник колонизирован бактериями, выделяемыми из ротовой полости и с кожи медицинского персонала [11]. F. Backhed и соавт. установили, что по сравнению с детьми от вагинальных родов фекальный микробиом младенца после кесарева сечения имеет большее содержание таких микробов, как *Enterobacter hormaechei* / *E. cancerogenus*; *Haemophilus parainfluenzae* / *H. aegyptius*, *H. influenzae*, *H. haemolyticus*; *Staphylococcus saprophyticus* / *S. lugdunensis*, *S. aureus*; *Streptococcus australis* и *Veillonella dispar* / *V. parvula*, т.е. у этих новорожденных первичная колонизация осуществлялась бактериями окружающей среды, в т.ч. с кожи и ротовой полости окружающих лиц [37]. Напротив, при вагинальных родах кишечная флора новорожденных содержит больше микробов рода *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides*, *Escherichia* / *Shigella*, которые являются у них наиболее распространенными; наиболее рано выделяются *Escherichia* / *Shigella*, что согласуется с повышенным уровнем ДНК *Escherichia* в меконии и плаценте [38]. Различия, связанные со способом родоразрешения, постепенно уменьшаются — к 4 и 12 мес, но микробиота младенцев после кесарева сечения остается более разнородной. В то же время представители рода *Bacteroides*, в частности *B. ovatus* / *B. xylanisolvens*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis* и *B. vulgatus* / *B. dorei*, встречались редко или отсутствовали у младенцев после кесарева сечения, и эта особенность сохранялась в возрасте 4 и 12 мес.

Снижение разнообразия микрофлоры кишечника, задержка колонизации *Bacteroidetes* и снижение Th1-ответа у детей раннего возраста, рожденных путем кесарева сечения, отмечено также в исследовании H. Jakobsson и соавт. [39]. Авторы оценивали влияние метода родоразрешения на развитие кишечной микробиоты у грудных детей и изучали различия в характере колонизации до созревания сбалансированного иммунного ответа Th1/Th2. Кишечная микробиота была изучена через 1 нед после родов и в 1, 3, 6, 12 и 24 мес у 24 детей, рожденных естественным путем ($n = 15$) или после кесарева сечения ($n = 9$). Уровни Th1- и Th2-ассоциированных хемокинов в крови были оценены в 6, 12 и 24 мес. Установлено, что младенцы, рожденные путем кесарева сечения, имели низкое общее разнообразие микробио-

ты в течение первых 2 лет жизни, более низкую численность и разнообразие *Bacteroidetes* и значительно более низкие уровни Th1-ассоциированных хемокинов CXCL10 и CXCL11 в крови. Таким образом, кесарево сечение связано с более низким общим микробным разнообразием, задержкой колонизации *Bacteroidetes* и снижением Th1-ответа в течение первых 2 лет жизни.

Большой теоретический и практический интерес вызывают поиски возможного частичного восстановления микробиоты у детей, рожденных путем кесарева сечения, с помощью микробного вагинального трансфера [40]. Дети, рожденные путем кесарева сечения, были протерты марлей, которую инкубировали в материнском влагалище за 30–60 мин до операции. Обработку новорожденного проводили в течение 1–3 мин после рождения, начиная с ротовой полости, лица и далее остальных частей тела. Микробиота кишечника, ротовой полости и кожи новорожденных после кесарева сечения, подвергшихся обработке, имела сходство с вагинально рожденными детьми, с более быстрым восстановлением в полости рта и на коже, чем в образцах микробиоты, полученных из ануса.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МИКРОБИОТЫ МЛАДЕНЦА И МАТЕРИ

Установлено, что 72% микробиоты младенца в раннем неонатальном периоде формируется под влиянием микробиоты кишечника матери, в т.ч. основных ее видов, таких как *Escherichia* / *Shigella*, *B. longum*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *Bilophila wadsworthia*. Лактобактерии влагалища матери транзиторно колонизируют кишечник новорожденного [37]. Некоторые виды бактерий не были найдены у матерей, в т.ч. *Propionibacterium acnes*, *Streptococcus agalactiae* и *Veillonella* sp. *Oral taxon 780*: возможно, они выделялись из других локусов матери или из окружающей среды. Тем не менее распространенность этих видов сократилась с возрастом, и они полностью исчезли к возрасту 12 мес, что, вероятно, отражает уменьшение приспособительных возможностей этих микробов в кишечнике человека.

Передача микрофлоры от матери к младенцу при кесаревом сечении нарушается. Установлено, что при кесаревом сечении реже встречаются сочетания выделения у ребенка и матери *Bacteroides*, чаще — *E. faecalis*. Передача от матери к ребенку *Bifidobacterium* после кесарева сечения наблюдается с меньшей частотой в сравнении с таковой после вагинальных родов [41]. Таким образом, результаты указывают на то, что большинство микробов, колонизирующих кишечник новорожденного, происходят от матери; при этом способ родоразрешения — важный фактор формирования кишечной флоры у доношенных детей в раннем возрасте.

В свою очередь, микрофлора кишечника матери оказалась тесно связанной не только с ее диетой и образом жизни, но и с наличием/отсутствием избыточного веса. Большой индекс массы тела (ИМТ ≥ 25) матерей был связан с более высокими концентрациями *Bacteroides*, *Clostridium* и *Staphylococcus* и более низкими — *Bifidobacterium* в микробиоте их детей [42]; содержание *Akkermansia muciniphila*, *Staphylococcus* и *Clostridium difficile* были ниже у детей от матерей с нормальным весом и нормальной прибавкой в весе во время беременности.

РОЛЬ ГРУДНОГО ВСКАРМЛИВАНИЯ В СТАНОВЛЕНИИ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

К настоящему времени сформулирован и достаточно полно обоснован постулат об определяющем влиянии характера питания младенца на его микробиоту, многократно подтверждена саногенетическая значимость грудного вскармливания. Установлено, что грудное молоко имеет собственную микробиоту [43]. При грудном вскармливании в микробиоте кишечника младенца преобладают бифидобактерии, при прекращении грудного вскармливания характер микробиоты изменяется: начинается приближение ее к таковой взрослого организма [37]. Установлено, что ИМТ лактирующей матери связан с составом микробиоты грудного молока. Так, и в молозиве, и спустя 6 мес лактации в грудном молоке женщин с нормальным ИМТ преобладают *Bifidobacterium*, а при избыточном ИМТ — *Lactobacillus* и *Staphylococcus* при сниженном содержании *Bifidobacterium* [44]. Таким образом, при избыточном наборе веса во время беременности или ожирении у беременных может быть запущен «порочный круг» неблагоприятного метаболического развития их детей, в т.ч. с участием микробиоты кишечника, связанной с избыточным весом и ожирением, которая передается младенцам [44].

На микробиоту грудного молока влияет способ родоразрешения. Так, в грудном молоке женщин после кесарева сечения отмечены выраженные композиционные изменения: уменьшено содержание *Leuconostocaceae* и увеличено *Corynebacteriaceae* по сравнению с женщинами, родившими естественным путем; причем это различие определяется в молозиве и сохраняется в 1 и 6 мес лактации, что указывает на долгосрочный эффект. Отмечено, что грудное молоко женщин после экстренного кесарева сечения имеет микробиоту, сходную с молоком женщин после вагинальных родов. Предполагают, что гормональные изменения при физиологических родах влияют на состав микробиоты [44].

Микробиота грудного молока зависит от стадии лактации: так, в молозиве вначале преобладают *Weissella* и *Leuconostoc* (*Lactobacillus*), затем к ним присоединяются стафилококки, стрептококки и лактококки; в зрелом молоке преобладают молочнокислые бактерии, но постепенно увеличиваются бактерии, обычно выделяемые из полости рта — *Veillonella*, *Leptotrichia*, *Prevotella* [44].

Состав микробиоты грудного молока отличается от микрофлоры других локусов и не является результатом контаминации. Предполагаемые пути формирования микробиоты грудного молока — энтеромолочный (через лимфоидную ткань кишечника) и эндоцитоз (повышенная проницаемость кишечника во время родового стресса с участием избирательного механизма в отношении определенных бактерий — лактобацилл) [44].

При грудном вскармливании имеет место не только прямой перенос микробиоты грудного молока к ребенку, но и опосредованное влияние на становление микробиоты кишечника других факторов грудного молока — пребиотиков, гормонов, факторов роста, лизоцима, жирнокислотных и белковых компонентов, иммуномодулирующих и противовоспалительных веществ. После прекращения грудного вскармливания «последствие» многих его факторов сохраняется; микробиота кишечника младенца приближается к таковой взрослого к возрасту от 1 года до 3 лет [37].

РАЗЛИЧИЯ МИКРОБИОТЫ У МЛАДЕНЦЕВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГРУДНОМ ИЛИ ИСКУССТВЕННОМ ВСКАРМЛИВАНИИ

После рождения микробиотой кишечника младенца характеризуется низким видовым разнообразием и высокими темпами бактериального роста до достижения 2 или 3 лет [45]. Факультативные анаэробные бактерии, в т.ч. *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* и *Enterobacteria*, как полагают, являются первыми бактериями, колонизирующими кишечник. Их функция состоит в потреблении кислорода и создании среды для заселения облигатными анаэробами [46, 47]. Они позже сменяются на факультативные анаэробы, которые в дальнейшем доминируют в желудочно-кишечном тракте, в первую очередь *Actinobacteria* и *Firmicutes* [48]. Это изменение доминирующего представительства таксонов может быть связано с первой диетой — кормлением грудным молоком или молочной смесью. На грудном вскармливании доминирующие *Actinobacteria* представлены видами *Bifidobacterium*, в частности *B. breve*, *B. longum*, *B. dentium*, *B. infantis* и *B. pseudocatenulatum* [49].

Имеются данные, что на протяжении первой недели жизни в микробиоте новорожденных, находящихся на грудном или смешанном вскармливании, существенных различий нет [37]. Однако уже к возрасту 4 мес были отмечены явные различия между детьми на исключительно грудном вскармливании и на искусственном. У первых отмечен повышенный уровень микроорганизмов-пробиотиков — *Lactobacillus johnsonii* / *L. gasseri*, *L. paracasei* / *L. casei* и *B. longum*. У детей на искусственном вскармливании к 4 мес повышены уровни *C. difficile*, *Granulicatella adiacens*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Bilophila wadsworthia*, что согласуется с данными других исследователей [50, 51]. Вместе с тем имеются противоречивые сведения относительно различий в численности *Bifidobacterium* между детьми раннего возраста, вскармливаемыми грудным молоком и молочными смесями. Некоторые исследования показали, что у детей на искусственном вскармливании количественное преобладание *Bifidobacterium spp.* аналогично тем детям, кто получал грудное вскармливание [49, 52]. Тем не менее другое исследование продемонстрировало в два раза большее количество *Bifidobacterium* у детей при грудном вскармливании, чем при кормлении молочными смесями [50].

Вариабельность в количественном содержании *Bifidobacterium*, возможно, связана с различиями в составе молочной смеси. Использование смесей, обогащенных пребиотиками галактоолигосахаридами и фруктоолигосахаридами, может объяснять высокий уровень *Bifidobacterium*, обнаруженный у детей при искусственном вскармливании [53]. В то же время кишечная микробная популяция у детей, вскармливаемых традиционной молочной смесью, как сообщается, содержала на 20% меньше *Bifidobacterium* [54].

Изучались особенности метаболитов и ферментов, производимых микроорганизмами, в зависимости от характера вскармливания [55]. При искусственном вскармливании отмечен переизбыток бактерий, продуцирующих β-агаразы, β-порфираназы и пектатлазы. У младенцев на исключительно грудном вскармливании выявлено более высокое содержание микроорганизмов, которые участвуют в окислительном фосфорили-

ровании и синтезе витаминов группы В (рибофлавин, тетрагидрофолат, биотин) [55]. Прекращение грудного вскармливания приводит к постепенному приближению состава микробиоты к «взрослому» типу (*Bacteroides*, *Bilophila*, *Roseburia*, *Clostridium* и *Anaerostipes*); если младенец до 12 мес жизни получает грудное молоко, у него преобладают *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Collinsella*, *Megasphaera* и *Veillonella* — бактерии, которые были обнаружены в грудном молоке [56]. Таким образом, грудное вскармливание обеспечивает преемственность формирования микробных сообществ на первом году жизни с доминированием бифидо- и лактобактерий, при этом микробиом кишечника ребенка сохраняет функциональное сходство с таковым у матери и имеет большее разнообразие, чем при искусственном вскармливании.

В то же время последние исследования показывают, что при использовании современных молочных смесей, обогащенных биологически активными компонентами, различия в микробиоте младенцев, получающих эти продукты или грудное молоко, не так существенны, особенно в период, когда начинается введение блюд прикорма [57]. Помимо этого, в становлении микробиоты младенца в этом возрасте прослеживается влияние материнских факторов, прежде всего способа родоразрешения и диеты женщины [44]. Немаловажно обогащение современных молочных смесей пребиотиками, способствующими росту бифидобактерий [58].

У младенцев, начиная с конца первого года жизни, определяется все большее разнообразие колонизирующих микроорганизмов; современные методики исследований позволяют выявлять их новые разновидности, что неоправданно расширяет таксономию и затрудняет оценку значимости отдельных микробных филов. Вероятно, необходима разработка адекватной систематизации микроорганизмов, подобной разработанной Линнеем всеобщей систематизации растений [59]: это позволит продолжить перспективные исследования обратных связей в системе макроорганизм–микроорганизм и уточнить роль микробиома в созревании ферментных систем макроорганизма как фактора подготовки к переходу на «взрослый» тип питания [57].

ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА СТАНОВЛЕНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ РЕБЕНКА

Последние эпидемиологические данные свидетельствуют о наличии связи между ранним применением антибиотиков и фенотипом болезни взрослых. Установлено, что антибиотики могут вызывать как транзиторные, так и персистирующие повреждения кишечной микрофлоры, которые сопряжены с иммунными сдвигами (в т.ч. с нарушениями секреции иммуноглобулинов А, уменьшением барьерной функции слизистой оболочки, замедленным созреванием пейеровых бляшек и Т клеток), нарушениями метаболического гомеостаза, колонизацией условно-патогенными микробами. В отдаленной перспективе эти сдвиги в микробиоте могут быть связаны с развитием ожирения, бронхиальной астмы, атопии, диабета 1-го типа, рассеянного склероза; обсуждаются связи с повышением риска аутизма и онкопатологии [60].

Тревожный факт — уменьшение разнообразия состава кишечной микробиоты на фоне антибактериальной терапии [61]. Исследования демонстрируют широкий диа-

пазон снижения микробного разнообразия после воздействия антибиотиков, при этом микробиота продолжительно восстанавливается до исходного уровня. В период восстановления ребенок наиболее уязвим в связи с низким содержанием индигенных микробов, необходимых для подавления потенциальных патогенных микроорганизмов и патобионтов [60].

Ведущими зарубежными микробиологами определены четыре основных типа антибиотиксвязанного дисбиоза, являющегося основой ряда дальнейших заболеваний:

- потеря ключевых микробных таксонов;
- снижение разнообразия микробиоты;
- «сдвиг» метаболической активности микробиоты;
- преобладание патогенных микроорганизмов.

Развитие различных заболеваний связано с каскадным течением дисбиоза, зависящим от взаимодействия системы хозяин–микробиом. Так, за развитие аллергии и атопических заболеваний могут быть ответственны два типа дисбиоза — потеря ключевых микробных таксонов и преобладание патогенов и патобионтов [60].

НЕДОНОШЕННЫЕ МЛАДЕНЦЫ: ОСОБАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА МИКРОБИОТЫ

Современные исследования позволили оценить влияние различных факторов на становление микробиоты кишечника у недоношенных детей. Так, установлено, что микроорганизмы, обнаруженные в амниотической жидкости, могут не только колонизировать кишечник плода, но и способствовать его преждевременному рождению [35]. Медиаторы воспаления, попадающие в организм незрелого плода с околоплодными водами, могут уже внутриутробно вызывать воспалительные изменения в кишечнике [62]. У недоношенных, родившихся в срок 23–32 нед, меконий уже не является стерильным [34]. Выявлены различия в микрофлоре недоношенных младенцев в зависимости от факта приема антибиотиков их матерями.

Для недоношенных детей особенно важно обеспечение грудного вскармливания как фактора, снижающего риск развития некротизирующего энтероколита [63], поскольку грудное молоко предотвращает аномальную колонизацию желудочно-кишечного тракта [64]. При этом частота тяжелого заболевания у недоношенных на грудном вскармливании снижается почти в 2 раза [65]. Антибиотики, вынужденно широко используемые при выхаживании недоношенных младенцев, могут существенно уменьшить разнообразие их микробиоты, что также способствует развитию некротизирующего энтероколита [66]. Установлено, что каждый день «эмпирического» лечения антибиотиками повышает риск развития заболевания вплоть до летального исхода у недоношенных младенцев [66].

Таким образом, при выхаживании недоношенных детей и назначении терапии необходимо учитывать особую ранимость, хрупкое равновесие их кишечной микробиоты [67].

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ-ПРОБИОТИКОВ: СОВРЕМЕННАЯ САНОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАРАДИГМА В ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ПЕДИАТРИИ

Препараты-пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, предназначенные для направленного воздействия на кишечную микробиоту человека [68, 69].

Термин «пробиотики» был предложен D. Lilly и R. Stillwell в 60-е годы XX века и с тех пор широко используется в научной медицинской литературе [70]. Тем не менее указание на их использование имеет свидетельство еще с древних времен. Более 2 тыс. лет назад в Риме (76 г. н. э.) Плиний использовал ферментированное молоко для лечения диареи. В 1906 г. французский исследователь Н. Tissier обнаружил защитный эффект от колонизации кишечника ребенка бифидобактериями [71]. Научное обоснование профилактического использования микроорганизмов — сапрофитов и симбионтов — было получено русским ученым И. И. Мечниковым, который установил ведущую роль гнилостных процессов в кишечнике в происхождении многих заболеваний и в ускорении процессов старения, а также предложил использовать для вытеснения нежелательных микроорганизмов молочнокислые бактерии *L. bulgaricus*, содержащиеся в кефире [68].

В последние годы объем исследований, посвященных пробиотикам, прогрессивно увеличивается: постоянно регистрируются новые штаммы пробиотиков (как пищевых добавок, так и лекарств); пробиотиками обогащаются многие молочные продукты, в т. ч. и предназначенные для детского питания [72]. Установлено, что эффекты этих препаратов являются штаммоспецифичными, т. е. определяются свойствами конкретного штамма [73].

В практической педиатрии использование пробиотиков было начато в 60–70-е годы XX века; за прошедшие десятилетия отечественными и зарубежными исследователями выполнено множество исследований, объясняющих эффективность пробиотиков при различной патологии детского возраста. Метаанализы рандомизированных контролируемых исследований позволили выработать согласованные рекомендации по применению пробиотиков в профилактике и лечении желудочно-кишечных заболеваний у детей. Наиболее изученными при этом оказались *L. rhamnosus* GG (LGG), *L. reuteri*, *B. lactis* и *Saccharomyces boulardii*. Установлено, что при риске развития острых инфекционных внебольничных диарей у детей, находящихся вынужденно на искусственном вскармливании, пробиотические добавки обладали профилактическим действием [74]. Хотя этот эффект не всегда находил подтверждение [75], такое действие установлено для штаммов LGG, *L. reuteri*, *B. lactis*.

В плане профилактики развития нозокомиальных диарей у госпитализированных пациентов с хроническими заболеваниями (в т. ч. для профилактики внутрибольничной ротавирусной инфекции), а также при лечении пациентов с уже развившейся диареей была достоверно продемонстрирована эффективность штаммов *B. lactis* BB-12, *Streptococcus thermophilus*, *B. bifidum* и LGG. Так, при вскармливании младенцев смесью с добавками указанных пробиотиков эпизоды диареи были менее тяжелыми, протекали с меньшим обезвоживанием [76]. В лечении острых инфекционных диарей, как вирусных, так и бактериальных, была установлена эффективность в первую очередь LGG и *S. boulardii*, во вторую — *L. reuteri* [77–79], при этом в плацебоконтролируемом исследовании был определен дозозависимый эффект *L. reuteri* [80]. Наибольшая эффективность установлена при сочетанном применении оральной регидратации и пробиотика [81].

В педиатрической практике нередко развитие антибиотикассоциированных диарей: это состояние разви-

вается почти у 10% детей в возрасте до 2 лет на фоне антибиотикотерапии. Установлено, что предотвратить развитие антибиотикассоциированных диарей возможно при использовании пробиотиков LGG и *S. boulardii* [82]. В отношении диареи путешественников профилактическая эффективность установлена для *S. boulardii*; для эффективной эрадикации хеликобактерной инфекции достоверно действующих пробиотиков пока не установлено, хотя отмечено уменьшение симптомов при применении LGG и *S. boulardii*.

Социально значимая проблема — младенческие колики, снижающие качество жизни не только самого ребенка, но и всей его семьи, при этом использование препаратов симетикона зачастую неэффективно [83]. Были апробированы различные штаммы пробиотиков не только для профилактики [83], но и в лечении синдрома колик. Наряду с коррекцией питания установлена высокодостоверная роль пробиотика *L. reuteri*: его применение позволило уменьшить не только риск развития колик, но и других функциональных расстройств (срыгиваний, запоров). Также было проведено исследование с комбинацией *B. lactis* BB-12 и *S. thermophilus* TH-4, показавшее положительное действие при коликах [84].

О роли препаратов-пробиотиков в предупреждении развития некротизирующего энтероколита у недоношенных свидетельствуют исследования, подтвердившие стабилизацию барьерной функции слизистой оболочки и конкурентное вытеснение патогенной флоры у пациентов, получавших пробиотики [85], а также стимулирование иммунного ответа этими препаратами через toll-подобные рецепторы [86]. Не все пробиотики при этом эффективны: наибольшая эффективность определена для *B. breve*, сочетания *B. lactis* и *S. thermophilus*, LGG, *L. acidophilus* и *L. reuteri*.

Интересны исследования, посвященные использованию пробиотиков в профилактике аллергии. Установлено, что применение беременными женщинами одновременно пре- и пробиотиков способствовало значительному снижению частоты атопического дерматита у детей и тенденции к общему сокращению аллергических реакций [87]. В то же время многие авторы высказали сомнение в профилактической антиаллергической роли пробиотиков [88, 89]. Таким образом, исследования эффективности приема пробиотиков при аллергических заболеваниях требуют дифференцированной оценки различных форм этой патологии: так, положительный эффект при атопическом дерматите пробиотики могут оказать у детей с повышенным уровнем иммуноглобулина E и положительными кожными тестами [90].

Возможности применения пробиотиков с целью профилактики и лечения ожирения нуждаются в дальнейшем изучении. В настоящее время выполнены единичные исследования эффективности коррекции микробиоты у взрослых пациентов с ожирением: использование в комплексной терапии пробиотического штамма *L. plantarum* способствовало значительному снижению уровня холестерина и фибриногена в плазме [91]. Сходный эффект в диетотерапии пациентов с ожирением оказывало применение йогуртов, содержащих *L. acidophilus*, *B. longum* и олигофруктозу [92].

Коррекция метаболических нарушений у беременных (в т. ч. уровня глюкозы) также возможна с помощью при-

менения пробиотиков (впоследствии пробиотик назначался женщинам в течение года после родов для профилактики развития ожирения) [93].

В исследованиях показано, что микробиота кишечника может выполнять определенные функции в коррекции метаболических, нейрогормональных и иммунных нарушений, связанных с ожирением [94]. В этом случае использование биологически активных стратегий, ориентированных на экосистему кишечника, выступает в качестве дополнительного инструмента для контроля нарушений обмена веществ.

Введение пробиотиков, пребиотиков и их комбинации (синбиотики) оказывает положительный эффект на метаболизм жиров в экспериментальных исследованиях [29]. Последующие исследования в этой области могут быть полезными для поиска путей профилактики ожирения и связанных с ним нарушений обмена веществ.

Препараты-пробиотики считаются высоко безопасными, они редко вызывают негрубые побочные эффекты, чаще всего метеоризм [95]. Тем не менее у иммунокомпromетированных пациентов (в т.ч. у новорожденных детей) в редких случаях они могут быть этиологическим фактором инфекционно-воспалительных процессов [94]. Рекомендуется с осторожностью использовать пробиотики у пациентов с иммунодефицитными состояниями, а также с функционирующим центральным венозным катетером: для таких детей необходима разработка модифицированных пробиотиков.

Нами выполнено исследование эффективности и безопасности использования у недоношенных детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела и получающих антибактериальную терапию, комбинированного пробиотика, содержащего *B. lactis* BB-12 (10^8 КОЕ) и *S. thermophilus* TH-4 (10^7 КОЕ). Включение в комплексную терапию этого пробиотика обеспечило снижение частоты пищеварительных дисфункций у недоношенных пациентов, более быстрое достижение полного энтерального питания, удовлетворительной динамики

прибавки массы тела и стабилизации общего состояния, что позволило сократить длительность стационарного лечения [96].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования последних лет демонстрируют важную роль становления кишечной микробиоты в адаптации как здорового, так и больного ребенка, в определении направленности патологических процессов на фоне интенсивного роста и развития всех органов и систем. Восстановление нарушенного какой-либо патологией баланса микрофлоры — это важный саногенетический процесс, независимо от того, носит ли он спонтанный характер или индуцируется комплексной терапией с включением пре- и/или пробиотиков. С учетом современных достижений медицинской генетики, вероятно, в рамках дальнейшего развития персонализированной медицины следует ожидать разработки таргетных подходов в коррекции нарушений микрофлоры, что позволит существенно повысить эффективность профилактики и лечения различных патологий детского возраста.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья опубликована при поддержке компании «Пфайзер Инновации».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

И. А. Беляева сотрудничает с компанией «Пфайзер Инновации».

Е. П. Бомбардинова, М. Д. Митиш, Т. В. Потехина, Н. А. Харитонова — отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

И. А. Беляева <http://orcid.org/0000-0002-8717-2539>

Е. П. Бомбардинова <http://orcid.org/0000-0002-6677-2914>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*. 2012;148(6):1258–1270. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035.
- Cabreiro F, Gems D. Worms need microbes too: microbiota, health and aging in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO Mol Med*. 2013;5(9):1300–1310. doi: 10.1002/emmm.201100972.
- Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends Microbiol*. 2004;12(3):129–134. doi: 10.1016/j.tim.2004.01.001.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, et al. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804–810. doi: 10.1038/nature06244.
- Godheja J, Shekhar SK, Modi DR. Advances in molecular biology approaches to gauge microbial communities and bioremediation at contaminated sites. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. 2014;2(4):167–177. doi: 10.12691/ijebb-2-4-4.
- Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59–65. doi: 10.1038/nature08821.
- Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486(7402):207–214. doi: 10.1038/nature11234.
- Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013;498(7452):99–103. doi: 10.1038/nature12198.
- Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*. 2014;32(8):834–841. doi: 10.1038/nbt.2942.
- Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? *Pediatr Res*. 2006;59(1):96–101. doi: 10.1203/01.pdr.0000191137.12774.b2.
- 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.
- Subramanian S, Huq S, Yatsunenko T, et al. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. *Nature*. 2014;510(7505):417–421. doi: 10.1038/nature13421.
- Chan YK, Estaki M, Gibson DL. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Ann Nutr Metab*. 2013;63 Suppl 2:28–40. doi: 10.1159/000354902.
- Peris-Bondia F, Latorre A, Artacho A, et al. The active human gut microbiota differs from the total microbiota. *PLoS One*. 2011;6(7):e22448. doi: 10.1371/journal.pone.0022448.

15. Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol*. 2011;17(5):557–566. doi: 10.3748/wjg.v17.i5.557.
16. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003;361(9356):512–519. doi: 10.1016/S0140-6736(03)12489-0.
17. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. 2010;90(3):859–904; doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
18. 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.
19. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host–bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005;307(5717):1915–1920. doi: 10.1126/science.1104816.
20. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027–1031. doi: 10.1038/nature05414.
21. 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.
22. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(1):129–134. doi: 10.1067/mai.2001.111237.
23. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med*. 2016;22(10):1187–1191. doi: 10.1038/nm.4176.
24. Fujimura KE, Lynch SV. Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):592–602. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.007.
25. europa.eu [Internet]. European Commission. Ten Key Facts about Nutrition and Obesity. Nutrition and Obesity. Brussels, Belgium: European Commission; 2014 [cited 2017 Jun 29]. Available from: http://ec.europa.eu/health/archive/ph_determinants/life_style/nutrition/documents/10keyfacts_nut_obse.pdf.
26. Blake-Lamb TL, Locks LM, Perkins ME, et al. Interventions for childhood obesity in the first 1000 days: a systematic review. *Am J Prev Med*. 2016;50(6):780–789. doi: 10.1016/j.amepre.2015.11.010.
27. Samani NJ, Tomaszewski M, Schunkert H. The personal genome — the future of personalised medicine? *Lancet*. 2010;375(9725):1497–1498. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60598-3.
28. Graf C, Ferrari N. Metabolic syndrome in children and adolescents. *Visc Med*. 2016;32(5):357–362. doi: 10.1159/000449268.
29. Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, et al. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia*. 2010;53(4):606–613 doi: 10.1007/s00125-010-1662-7.
30. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(31):11070–11075. doi: 10.1073/pnas.0504978102.
31. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(3):534–538.
32. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444(7122):1022–1023. doi: 10.1038/4441022a.
33. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500(7464):585–588. doi: 10.1038/nature12480.
34. Mshvildadze M, Neu J, Schuster J, et al. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *J Pediatr*. 2010;156(1):20–25. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.06.063.
35. 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.
36. Collado MC, Rautava S, Aakko J, et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep*. 2016;6:23129. doi: 10.1038/srep23129.
37. Backhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(6):852. doi: 10.1016/j.chom.2015.05.012.
38. Gosalbes MJ, Llop S, Valles Y, et al. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(2):198–211. doi: 10.1111/cea.12063.
39. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 2014;63(4):559–566. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303249.
40. Dominguez-Bello MG, De Jesus-Laboy KM, Shen N, et al. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat Med*. 2016;22(3):250–253. doi: 10.1038/nm.4039.
41. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One*. 2013;8(11):e78331. doi: 10.1371/journal.pone.0078331.
42. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(4):894–899.
43. Fernandez L, Langa S, Martin V, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013;69(1):1–10. doi: 10.1016/j.phrs.2012.09.001.
44. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, et al. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(3):544–551. doi: 10.3945/ajcn.112.037382.
45. Bergstrom A, Skov TH, Bahl MI, et al. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(9):2889–2900. doi: 10.1128/AEM.00342-14.
46. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. 2007;5(7):e1177. doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.
47. Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Chassard C. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates. *PLoS One*. 2012;7(8):e44595. doi: 10.1371/journal.pone.0044595.
48. Turrioni F, Peano C, Pass DA, et al. Diversity of bifidobacteria with in the infant gut microbiota. *PLoS One*. 2012;7(5):e36957. doi: 10.1371/journal.pone.0036957.
49. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000;30(1):61–67. doi: 10.1097/00005176-200001000-00019.
50. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. 2011;17(6):478–482. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.009.
51. Penders J, Vink C, Diessen C, et al. Quantification of Bifidobacterium spp., Escherichia coli and Clostridium difficile in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;243(1):141–147. doi: 10.1016/j.femsle.2004.11.052.
52. Fallani M, Young D, Scott J, et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence Beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;51(1):77–84. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181d1b11e.
53. Marques TM, Wall R, Ross RP, et al. Programming infant gut microbiota: influence of Dietary and environmental factors. *Curr Opin Biotechnol*. 2010;21(2):149–156. doi: 10.1016/j.copbio.2010.03.020.
54. Knol J, Boehm G, Lidestri M, et al. Increase of faecal bifidobacteria due to dietary oligosaccharides induces a reduction of clinically relevant pathogen germs in the faeces of formula-fed preterm infants. *Acta Paediatr Suppl*. 2005;94(449):31–33. doi: 10.1080/08035320510043529.
55. Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, et al. (2014). The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D490-5. doi: 10.1093/nar/gkt1178.
56. Jost T, Lacroix C, Braegger CP, et al. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environ Microbiol*. 2014;16(9):2891–1904. doi: 10.1111/1462-2920.12238.

57. Voreades N, Kozil A, Weir TL. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol.* 2014;5:494. doi: 10.3389/fmicb.2014.00494.
58. Vandenas Y, De Greef E, Veereman G. Prebiotics in infant formula. *Gut Microbes.* 2014;5(6):681–687. doi: 10.4161/19490976.2014.972237.
59. Brussow H. Microbiota and healthy ageing: observational and nutritional intervention studies. *Microb Biotechnol.* 2013;6(4):326–334. doi: 10.1111/1751-7915.12048.
60. Vangay P, Ward T, Gerber JS, Knights D. Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. *Cell Host Microbe.* 2015;17(5):553–564. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.006.
61. Biedermann L, Rogler G. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *Eur J Pediatr.* 2015;174(2):151–167. doi: 10.1007/s00431-014-2476-2.
62. Nanthakumar N, Meng D, Goldstein AM, et al. The mechanism of excessive intestinal inflammation in necrotizing enterocolitis: an immature innate immune response. *PLoS One.* 2011;6(3):e17776. doi: 10.1371/journal.pone.0017776.
63. 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;156(4):562–567.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.10.040.
64. Mai V, Young CM, Ukhanova M, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PLoS One.* 2011;6(6):e20647. doi: 10.1371/journal.pone.0020647.
65. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2012;129:e827–e841. doi: 10.1542/peds.2011-3552.
66. Alexander VN, Northrup V, Bizzarro MJ. Antibiotic exposure in the newborn intensive care unit and the risk of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* 2011;159(3):392–397. doi: 10.1016/j.jpeds.2011.02.035.
67. Neu J. The microbiome and its impact on disease in the preterm patient. *Curr Pediatr Rep.* 2013;1(4):215–221. doi: 10.1007/s40124-013-0031-7.
68. who.int [Internet]. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada; 2002. 11 p. [cited 2017 Jun 29]. Available from: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
69. Huff BA. Caveat emptor. «Probiotics» might not be what they seem. *Can Fam Physician.* 2004;50:583–587.
70. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 1965;147(3659):747–748. doi: 10.1126/science.147.3659.747.
71. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la methode de la transformation de la flore bacterienne de l'intestin. (In French). *C R Soc Biol.* 1906;60:359–361.
72. Mugambi M, Musekiwa A, Lombard M, et al. Probiotics, prebiotics infant formula use in preterm or low birth weight infants: a systematic review. *Nutr J.* 2012;11(1):58. doi: 10.1186/1475-2891-11-58.
73. Presti I, D'Orazio G, Labra M, et al. Evaluation of the probiotic properties of new Lactobacillus and Bifidobacterium strains and their in vitro effect. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015;99(13):5613–5626. doi: 10.1007/s00253-015-6482-8.
74. Sazawal S, Menon V, Deb S, et al. Efficacy of milk fortified with a probiotic Bifidobacterium lactis (DR-10TM) and prebiotic galactooligosaccharides in prevention of morbidity and on nutritional status. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004;13:S28.
75. Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;42(5):454–475. doi: 10.1097/01.mpg.0000221913.88511.72.
76. Thibault H, Aubert-Jacquin C, Goulet O. Effects of long-term consumption of a fermented infant formula (with Bifidobacterium breve c50 and Streptococcus thermophilus 065) on acute diarrhea in healthy infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004;39:147–152. doi: 10.1097/00005176-200408000-00004.
77. Shamir R, Makhoul IR, Etzioni A, Shehadeh N. Evaluation of a diet containing probiotics and zinc for the treatment of mild diarrheal illness in children younger than one year of age. *J Am Coll Nutr.* 2005;24(5):370–375. doi: 10.1080/07315724.2005.10719487.
78. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, et al. A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics.* 1991;88(1):90–97. doi: 10.1203/00006450-199005000-00026.
79. Shornikova AV, Isolauri E, Burkanova L, et al. A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and Lactobacillus GG for treatment of acute diarrhoea. *Acta Paediatr.* 1997;86(5):460–465. doi: 10.1111/j.1651-2227.1997.tb08913.x.
80. Shornikova AV, Casas IA, Mykkanen H, et al. Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16(12):1103–1107. doi: 10.1097/00006454-199712000-00002.
81. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(11):CD003048. doi: 10.1002/14651858.CD003048.pub3.
82. Szajewska H, Ruszczyński M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr.* 2006;149(3):367–372.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2006.04.053.
83. Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, et al. Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr.* 2014;168(3):228–233. doi: 10.1001/jamapediatrics.2013.4367.
84. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(2):261–267.
85. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evid Based Child Health.* 2014;9(3):584–671. doi: 10.1002/ebch.1976.
86. Martin CR, Walker WA. Probiotics: role in pathophysiology and prevention in necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol.* 2008;32(2):127–137. doi: 10.1053/j.semperi.2008.01.006.
87. Koletzko S. Probiotics and prebiotics for prevention of food allergy: indications and recommendations by societies and institutions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;63 Suppl 1:S9–S10. doi: 10.1097/MPG.0000000000001220.
88. Kendler M, Uter W, Rueffer A, et al. Comparison of fecal microflora in children with atopic eczema/dermatitis syndrome according to IgE sensitization to food. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17(2):141–147. doi: 10.1111/j.1399-3038.2005.00371.x.
89. Osborn DA, Sinn JK. Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(4):CD006474. doi: 10.1002/14651858.CD006474.pub2.
90. Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE, et al. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy.* 2006;36(7):899–906. doi: 10.1111/j.1365-2222.2006.02513.x.
91. Bukowska H, Pieczul-Mroz J, Jastrzebska M, et al. Decrease in fibrinogen and LDL-cholesterol levels upon supplementation of diet with Lactobacillus plantarum in subjects with moderately elevated cholesterol. *Atherosclerosis.* 1998;137(2):437–438. doi: 10.1016/S0021-9150(97)00283-9.
92. Kiessling G, Schneider J, Jahreis G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56(9):843–849. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601399.
93. Laitinen K, Poussa T, Isolauri E. Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomized controlled trial. *Br J Nutr.* 2009;101(11):1679–1687. doi: 10.1017/S0007114508111461.
94. Probiotics. *Med Lett Drugs Ther.* 2007;49(1267):66–68.
95. Thompson C, McCarter YS, Krause PJ, Herson VC. Lactobacillus acidophilus sepsis in a neonate. *J Perinatol.* 2001;21(4):258–260. doi: 10.1038/sj.sp.7200509.
96. Беляева И.А., Бомбардинова Е.П., Турти Т.В., и др. Кишечная микробиота у недоношенных детей: современное состояние проблемы (обзор литературы) // *Педиатрическая фармакология.* — 2015. — Т. 12. — № 3 — С. 296–303. [Belyaeva IA, Bombardirova EP, Turti TV, et al. Intestinal microbiota in premature children: the modern state of the problem (literature analysis). *Pediatric pharmacology.* 2015;12(3):296–303. (In Russ).] doi: 10.15690/pf.v12i3.1354.