

Н.М. Богданова, Е.М. Булатова, М.Н. Васиа (Mary Nechesa Wasia)

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Российская Федерация

Современный взгляд на микробиоценоз, иммунный ответ и факторы, влияющие на их формирование. Фундаментальные и прикладные аспекты

Contacts:

Bogdanova Natal'ya Mikhailovna, MD, assistant professor of the Department of Propedeutics of Child Diseases of St. Petersburg State Medical University of Pediatrics

Address: Litovskaya Street, 2, St. Petersburg, RF, 194100, **Tel.:** (812) 416-52-86, **e-mail:** natasha.bogdanov@mail.ru

Article received: 30.07.2013, **Accepted for publication:** 26.08.2013

В обзоре современной литературы обобщены результаты научных исследований о составе интестинальной микробиоты как у взрослого человека, так и у младенца. Показано, что вся интестинальная микробиота взрослого включает 395 филогенетически обособленных групп микроорганизмов, из которых 244 являются абсолютно новыми. На основании метода РНК-секвенирования генов выделены наиболее часто встречающиеся у европейцев энтеротипы. Продемонстрировано, что у взрослого индивидуума видовой состав интестинальной микробиоты уникален и стабилен, и что основой становления кишечного микробиома служит генетический фон макроорганизма. Освещены особенности формирования микробиоценоза на ранних этапах онтогенеза. Подчеркнуто, что преобладание «младенческих» видов бифидобактерий в составе интестинальной микробиоты у детей на естественном вскармливании обусловлено наличием в грудном молоке определенных питательных субстратов — олигосахаридов грудного молока, относящихся к природным пребиотикам. Обозначены критерии, которым должен соответствовать пищевой ингредиент, чтобы он мог быть отнесен к группе пребиотиков. Представлены новые экспериментальные и клинические данные о влиянии пребиотиков на разные уровни иммунологической защиты.

Ключевые слова: кишечная микробиота, энтеротипы, пребиотики, олигосахариды, инулин, иммунный ответ.

(Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (4): 18–25)

МИКРОБИОЦЕНОЗ ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА

С позиций современной науки микробиоценоз представляет собой единую микрoэкологическую систему организма, сформированную в процессе филогенетического развития как собственно человека, так и его микробиоты. При этом микробиота — это разнообраз-

ные по количественному и качественному составу ассоциации микроорганизмов и продукты их биохимической активности, обитающие в определенном биотопе [1].

Внедрение новейших методов молекулярно-генетического анализа значительно расширило представление о составе и функциях кишечной микробиоты.

Н.М. Bogdanova, E.M. Bulatova, M.N. Wasia

St. Petersburg State Pediatric Medical University, Russian Federation

Modern View on Microbiocenosis, Immune Response and Factors Influencing on Their Formation. Fundamental and Applied Aspects

This review of current literature summarizes results of scientific studies on the structure of the intestinal microbiota both of adults and infants. It is shown, that all intestinal microbiota of an adult consists of 395 phylogenetically isolated groups of microorganisms, among them 244 are absolutely new. Based on the RNA-sequencing of genes the most common among Caucasians enterotypes were detected. It was demonstrated, that specific structure of intestinal microbiota of an adult individual is unique and stable and that genetic background of the macroorganism is a base of intestinal microbiome formation. The article covers the issues of special characteristics of microbiocenosis development at the early stages of ontogenesis. It is emphasized, that prevalence of «infantile» species of bifidobacteria in the structure of intestinal microbiota of breast-fed infants is due to the presence of certain nutritive substances in the milk: oligosaccharides of the breast milk, which are natural prebiotics. The authors give criteria for including the nutrients into the group of prebiotics and show new experimental and clinical data on influence of prebiotics on different levels of immunological defense system.

Key words: intestinal microbiota, enterotypes, prebiotics, oligosaccharides, inulin, immune response.

(Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2013; 12 (4): 18–25)

Предложенный в 1999 г. метод РНК-секвенирования (определение нуклеотидной последовательности генов амплифицированных бактерий, полученных из фекалий или биоптатов слизистой оболочки кишечника), позволил более точно идентифицировать представителей филогенетических групп микроорганизмов [2].

Установлено, что общая численность клеток интестинальной микробиоты взрослого человека в среднем составляет 10^{13} – 10^{15} КОЕ/г, что в 10 раз превышает численность собственных клеток организма [3]. Это огромное число микроорганизмов представлено более чем 1000 видов. В ряде научных публикаций приводятся сведения о значительном варьировании флотипов (15 000–36 000), что в известной мере соответствует числу бактериальных видов. Однако эти данные требуют дальнейшего уточнения [4].

В 2008 г. был запущен глобальный проект «Микробиом человека» с целью расшифровки генома бактерий, населяющих организм человека. Термин «микробиом» был впервые предложен в 2001 г. для обозначения коллективных геномов микробиоты. Расшифровкой генома бактерий, населяющих желудочно-кишечный тракт, занимается Европейский консорциум MetaHIT. Уже расшифровано 3,3 млн генов, что примерно в 150 раз больше набора генов человека. Полученные результаты позволяют установить взаимосвязь определенных генов с состоянием здоровья, развитием заболеваний, а также определить фенотип человека [5].

Группа ученых под руководством P. B. Eckburg (2005), используя молекулярно-генетический метод и анализ последовательного клонирования 16S-рибосомальной РНК для идентификации мукосальной и фекальной микробиоты, показала, что вся интестинальная микробиота включает 395 филогенетически обособленных групп микроорганизмов, из которых 244 являются абсолютно новыми. Большинство из предполагаемых новых флотипов микроорганизмов относятся к отделам (филум) *Firmicutes* (род *Ruminococcus*) и *Bacteroidetes* (род *Bacteroides*) и составляют более 90% всех представителей кишечной эндоэкологии. Следует отметить, что 80% новых таксонов, выявленных при молекулярно-генетическом исследовании, — некультивируемые микроорганизмы [6].

Большая международная группа ученых под руководством M. Arumugam и J. Raes (2011) из Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL) идентифицировала из огромного количества микроорганизмов, колонизирующих желудочно-кишечный тракт человека, микробы, схожие по физико-химическим свойствам, и объединила их в соответствующие роды. В результате анализа образцов фекалий было выделено 3 основных рода микроорганизмов: *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Prevotella*. Это позволило ученым разделить респондентов, вошедших в исследование, на 3 соответствующих энтеротипа вне зависимости от места проживания, состояния здоровья и возраста. Каждому энтеротипу был присущ не только определенный род и вид микробов, но и, что особенно важно, соотношение отдельных представителей данного рода и вида микроорганизмов существенно отличалось в каждом конкретном энтеротипе [7]. Отмечено, что состав интестинальной микробиоты генетически связан внутри сообщества и специфичен на видовом уровне для индивидуума [8, 9], что обеспе-

чивает индивидуальность, уникальность и стабильность видового состава микробиоты у взрослого человека. Эта стабильность, формирующаяся на самых ранних этапах жизни человека, обусловлена наличием иммунологической толерантности к микроорганизмам, контаминирующим кишечник в период новорожденности.

Появляется все больше доказательств того, что факторы окружающей среды и различные диеты влияют на видовой состав микробных ассоциаций человека и тем самым на метаболизм, иммунный ответ и восприимчивость к болезни. Примером может послужить доказанная взаимосвязь между конкретным составом кишечной микробиоты индивида и развитием у него аллергических заболеваний (бронхиальная астма) и нарушений метаболизма (ожирение) [10, 11]. Это свидетельствует о том, что микробное сообщество и иммунная система организма имеют непрерывные перекрестные связи и реорганизацию, что приводит к их относительному равновесию, хотя при этом до конца не известно, каков именно механизм взаимодействия интестинального микробного сообщества с системой иммунного реагирования.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

Формирование кишечного микробиома определенного энтеротипа начинается непосредственно после рождения, продолжается в младенчестве, приближаясь к составу взрослого человека после 1 года жизни [12, 13]. Активация адаптивного иммунного ответа происходит после рождения под влиянием ряда факторов, главным из которых является экспозиция различных микроорганизмов. Именно поэтому видовой состав кишечной микробиоты важен для создания оптимального гомеостаза и иммунного ответа [14].

В ряде научных исследований с высокой степенью достоверности установлено, что генетический фон макроорганизма служит основой становления кишечного микробиома [15]. Однако такие факторы, как оперативное родоразрешение, реанимационные мероприятия, морфофункциональная незрелость новорожденного, отсроченное время прикладывания к груди и искусственное вскармливание приводят к формированию у младенца неоптимального микробиоценоза со сниженной микробной контаминацией. Подобный характер микробиоценоза («западный тип») негативно сказывается как на иммунном ответе, так и на метаболических процессах организма в любом возрасте [16–19].

Известно, что основным источником контаминации новорожденного является его биологическая мать, а именно ее урогенитальный тракт, кишечная флора и грудное молоко. С учетом имеющихся научно подтвержденных данных грудное молоко нельзя рассматривать как стерильный субстрат [12, 13]. Доказано, что наряду с индигенными микроорганизмами (бифидобактерии и лактобациллы) в грудном молоке находятся в низких титрах около 400 разновидностей непатогенных бактерий рода *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* и других, а также огромное количество их ДНК [20, 21].

В исследовании, выполненном под руководством E. K. Mitsou, показано, что колонизация кишечника лактобациллами и бифидобактериями у детей, рожден-

ных путем кесарева сечения, значительно ниже, чем у детей, появившихся естественным путем, на протяжении первых 3 мес жизни [22]. Также в научных работах подтверждено, что у детей, находящихся на исключительно грудном вскармливании, в кишечнике доминируют бифидобактерии, причем младенческие виды (*Bifidobacterium longum subsp. infantis*, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, *Bifidobacterium breve*) [23–25]. Это имеет важное значение для организма младенца, поскольку данные виды бифидобактерий грудного молока обеспечивают формирование иммунологической и пищевой толерантности, снижение активности воспалительного процесса, укрепление защитного барьера кишечника, тем самым уменьшая риск развития гастроинтестинальных заболеваний [25]. Кроме того, преобладание бифидобактерий в младенчестве способствует профилактике онкопатологии кишечника в зрелые годы благодаря способности бифидобактерий ингибировать активность β -глюкуронидазы и содержание канцерогенов [26].

Преобладание «младенческих» видов бифидобактерий в составе интестинальной микробиоты у детей на естественном вскармливании обусловлено наличием в грудном молоке определенных питательных субстратов — олигосахаридов грудного молока (ОСГМ). Состав ОСГМ очень сложен. Известно более 100 различных олигосахаридоподобных структур, которые появляются в первых каплях молозива и, проходя через весь желудочно-кишечный тракт младенца, осуществляют мощное протективное действие по отношению к широкому спектру патогенных микробов, способствуя стабилизации собственной индигенной флоры. В исследовании по определению содержания ОСГМ, проведенном на 1–5-й нед лактации, показано, что основную их часть составляют фукозолигосахариды, концентрация которых в материнском молоке колеблется от 0,8 до 20,8 ммоль/л, что составляет от 50 до 92% ОСГМ [27].

В генно-молекулярных исследованиях определено, что младенческие виды бифидобактерий имеют в своем геноме не менее 5 генов, которые кодируют синтез бактериальных галактозидаз. Установлено, что *B. infantis* продуцирует фермент β -галактозидазу, а *B. breve* — фермент эндогалактаназу, благодаря которым бифидобактерии осуществляют метаболизм ОСГМ [28–30]. Олигосахариды служат не только пищевым субстратом для собственной резидентной микробиоты, они также способствуют естественной защите организма от инфекции, выступая в качестве аналогов рецепторов эпителиоцитов, предотвращая тем самым адгезию энтеропатогенов к слизистой оболочке кишечника и проникновение их во внутреннюю среду организма [31, 32].

Доказано, что ОСГМ по своей структуре подобны селектин-лигандам, роль которых заключается в осуществлении важных межклеточных взаимодействий в иммунной системе. Формирование комплексов между тромбоцитами и нейтрофилами является одним из этапов нормального иммунного ответа. Для своего образования эти комплексы требуют присутствия селектинов, но их формирование возможно и под воздействием олигосахаридов. При этом ОСГМ содействуют как формированию комплексов тромбоциты–нейтрофилы, так и активации связанных нейтрофилов. Подобный механизм, по мнению L. Bode и соавт., лежит в основе противовоспалительного

эффекта олигосахаридов при ряде заболеваний кишечника, в частности при некротизирующем энтероколите [33].

Таким образом, грудное молоко — это «средство коммуникации» между иммунной системой матери и ребенка, активно «обучающее» и «направляющее» метаболизм младенца по физиологическому пути развития [34].

С введением продуктов прикорма характер кишечной микрофлоры усложняется и становится более разнообразным: увеличивается количество бактериоидов и других представителей анаэробной флоры, снижается общее количество бифидобактерий и меняется их видовой состав — «младенческие» виды начинают вытесняться «взрослыми» (*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium catenulatum*).

Расширение пищевого рациона сопровождается также и изменением в иммунном статусе. В экспериментальной работе, проведенной на крысах, выявлено, что при отлучении сосунков от груди в их лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, происходила индукция $\alpha\beta$ -TCR(+) Т клеток и увеличение числа рецепторов к интерлейкину (ИЛ) 2, что способствует развитию аллергического воспаления [35].

Для уменьшения выраженности возможных нарушений кишечной микроэкологии и негативных реакций со стороны GALT-системы ребенка при введении в его рацион качественно новых продуктов питания, т.е. продуктов прикорма, необходимо активно использовать те из них, которые, подобно грудному молоку, обладают защитными свойствами.

ПРОДУКТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ И ПРЕБИОТИКИ

В настоящее время продукты, способные благоприятно влиять на различные функции организма, улучшая не только состояние здоровья человека, но и предупреждая развитие различных заболеваний, относят к категории «функциональных». Функциональные свойства они приобретают за счет их обогащения витаминами, витаминоподобными соединениями, минералами, про- и пребиотиками и другими ценными пищевыми веществами с доказанным позитивным влиянием на организм [36].

Многие продукты прикорма по праву можно отнести к функциональным. Положительный эффект продуктов прикорма промышленного производства на здоровье детей неоднократно доказан как в эксперименте, так и в клинической практике.

Впервые о функциональном питании заговорили в Японии в 80-х гг. прошлого столетия. Впоследствии это направление получило широкое распространение в других развитых странах. Отмечено, что 60% всех функциональных продуктов питания, особенно обогащенных про- или пребиотиками, направлено на оздоровление кишечника и иммунной системы [37].

Обогащение продуктов прикорма пребиотиками является одним из перспективных направлений в связи с возможностью иммуномодулирующего эффекта последних.

Пребиотики были впервые определены как непереваживаемые пищевые ингредиенты, которые за счет избирательной стимуляции роста и метаболической активности одного или нескольких видов потенциально полезных групп бактерий (бифидобактерий и лактобацилл) и уменьшения численности патогенных видов микроорганизмов

существенным образом улучшают здоровье организма хозяина [38].

В указанном определении обозначены критерии, которыми должен обладать пищевой ингредиент, чтобы он мог быть отнесен к группе пребиотиков:

- устойчивость пищевого субстрата к перевариванию в тонком кишечнике;
- способность пищевого субстрата гидролизироваться под действием кишечной микрофлоры;
- способность пищевого субстрата селективно стимулировать рост и/или активность определенных видов бактерий в толстой кишке, потенциально связанных с состоянием здоровья и благополучия;
- доказанная эффективность и безопасность пищевого субстрата [38].

Хотя пребиотическая концепция относительно нова, продукты с высоким содержанием пребиотиков потреблялись с давних времен. Археологические находки, произведенные в пустыне Чиуауа, доказывают, что древние племена индейцев, проживающие на территории северной части Нью-Мексико, интенсивно использовали в своем питании растения с высоким содержанием инулина [39].

Природные пребиотики присутствуют только в растительной пище — фруктах, овощах, злаковых, бобовых, грибах. Животная пища их не содержит. Богаты пребиотиками пшеница, овес, лук-порей, спаржа, цикорий, топинамбур, чеснок, лук, фасоль, горох, артишок, бананы, кукурузные хлопья, соевые бобы и соя [40].

К наиболее изученным природным пребиотикам относят олигофруктозу, инулин, галактоолигосахариды (ГОС), ОСГМ.

Продукты питания, изготовленные с использованием современных технологий, содержат мало пищевых волокон (пребиотиков), в связи с чем возникает необходимость дополнительного введения их в рацион питания.

Чаще других пребиотиков в питании детей грудного и раннего возраста используют **инулин и олигофруктозу**, которые часто объединяют под термином фруктоолигосахариды (ФОС), или фруктаны [38].

Инулин, применяемый для обогащения продуктов детского питания, в промышленном масштабе получают из корней цикория путем экстракции в диффузоре. Этот процесс не изменяет молекулярную структуру и состав природного инулина.

Для получения **олигофруктозы** «стандартный» инулин подвергают частичному гидролизу и очистке.

ПРЕБИОТИКИ И УРОВНИ ЗАЩИТЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Пищевые ингредиенты и продукты их переработки находятся в тесном контакте с клетками обширной иммунной системы кишечника (GALT-системой), и очевидно, что их наличие в пищеварительном тракте является необходимым условием для адекватного развития и функционирования GALT-системы. В настоящее время выполнено относительно небольшое число исследований по поводу прямого влияния пребиотиков на иммунный ответ, а механизмы иммуномодуляции изучены недостаточно. Однако научные работы, проведенные в этом направлении, дают возможность предположить, что пребиотики могут модулировать иммунный ответ на разных уровнях.

Первый уровень — биологическая защита. Основным механизмом первого уровня заключается в активации роста

комменсальных бактерий, которые осуществляют непосредственный контакт с иммунокомпетентными клетками GALT-системы.

В последнее время в научном сообществе возрос интерес к фруктанам (инулин и ФОС) ввиду их выраженной пребиотической эффективности. Некоторые авторы продемонстрировали благоприятное влияние фруктанов на кишечную микробиоту *in vivo* и *in vitro* [41–46].

Одна из последних работ, проведенная в Hospital General Universitario Gregorio Marañon (Испания, 2012), доказательно демонстрирует бифидогенный эффект фруктанов. В рандомизированном двойном слепом плацебоконтролируемом клиническом исследовании приняли участие женщины в возрасте от 36 до 77 лет, страдающие раком гениталий, которым в послеоперационном периоде проводилась лучевая терапия. Основную группу составили 16 респондентов, которые получали пребиотическую смесь 2 раза в день (по 6 г инулина и ФОС). Группу сравнения (плацебо) составили 15 человек. В результате микробиологического (бактериологического и генно-молекулярного) исследования фекалий и биоптатов дистальных отделов толстой кишки было установлено, что лучевая терапия приводит к статистически достоверному снижению уровня жизнеспособных *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* и активному росту патогенных микроорганизмов как в основной группе, так и в группе сравнения. В свою очередь, трехнедельный курс смеси пребиотиков обеспечивает достоверное восстановление жизнеспособных *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* до исходного содержания и нормализацию микробиоценоза кишечника, что уменьшает число кишечных осложнений [47].

Значительный интерес представляют данные, полученные в отделе детского питания НИИ питания РАМН и при проведении мультицентрового научно-практического исследования в 7 городах Российской Федерации. Включение в рацион питания детей первых 6 мес жизни адаптированной молочной смеси, обогащенной инулином, способствовало достоверному увеличению количества бифидобактерий и лактобацилл и обеспечивало снижение содержания лактозонегативной *Escherichia coli* и *E. coli* со слабовыраженными ферментативными свойствами [48, 49].

Положительное влияние короткоцепочечных ФОС (кцФОС; экстракт олигосахаридов) и длинноцепочечных ФОС (длФОС; *Eleutherine americana extract*) на интестинальную микробиоту младенцев показано в научном исследовании, проведенном A.N. Phoem и соавт. (2013). Автор подчеркнул, что экстракт олигосахаридов обеспечивает доминирующее увеличение числа бифидобактерий у младенцев на первых этапах формирования микробиоценоза [50].

Второй уровень — химическая защита, в основе которой лежит образование короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в результате бактериальной ферментации пребиотиков с профилем КЦЖК, близким к таковому при грудном вскармливании. Установлено, что метаболический профиль фекалий при обогащении рациона кцФОС и длФОС в основном представлен уксусной и молочной кислотой с незначительным содержанием пропионовой и масляной (бутират). Максимальное образование уксусной кислоты происходит при метаболизме кцФОС (экстракта олигосахаридов) бифидобактериями и лактобациллами [50]. Метаболический профиль фекалий детей

на грудном вскармливании включает молочную кислоту и ряд КЦЖК (уксусная, пропионовая, масляная и др.).

Защитный эффект КЦЖК, образующихся при метаболизме фруктанов (инулин + ФОС), ГОС и резистентного крахмала, состоит [51]:

- в изменении соотношения между патогенными и непатогенными бактериями;
- благоприятном влиянии на противоопухолевый иммунитет, а именно в профилактике развития колоректального рака;
- обеспечении колоноцитов энергией, а также нормальной дифференцировке и пролиферации клеток;
- поддержании ангиопролиферативной и противовоспалительной защиты клеток организма;
- стимуляции образования слизи;
- профилактике развития сахарного диабета и метаболического синдрома.

Влияние метаболитов жирных кислот на состояние системы иммунитета зафиксировано в эксперименте. Назначение крысам в послеоперационном периоде по поводу резекции кишечника парентерального питания с добавлением КЦЖК приводило к увеличению у них в периферической крови числа Т-хелперов, макрофагов и нейтрофилов, а также повышению цитотоксической активности NK-клеток [52]. Отмечены противовоспалительные свойства КЦЖК. Например, бутират способен ингибировать активность транскрипционного фактора NF- κ B и фактора некроза опухоли (ФНО) α в клеточной линии HT-29 толстой кишки человека, простимулированной ИЛ-1 β . Фармакологическая доза ацетата, введенная внутривенно, интенсифицирует образование в периферической крови антител, активность NK-клеток и аллогенную смешанную реакцию лимфоцитов как у здоровых людей, так и у раковых больных [53].

Третий уровень — иммунологическая защита — включает снижение частоты инфекций верхних дыхательных путей и диареи, профилактику развития атопии и усиление поствакцинального иммунитета.

В ряде работ показано, что детское питание, обогащенное ГОС и ФОС, снижает частоту инфекций верхних дыхательных путей и астмы, а также титры IgE при атопических заболеваниях [54–56]. Кроме того, у новорожденных, получавших ГОС, ФОС и пектин-производные олигосахариды (ППОС), был зарегистрирован профилактический эффект по отношению к формированию атопического дерматита [57].

ПРЕБИОТИКИ И АТОПИЯ

Г. Мого и соавт. (2006) исследовали эффективность гипоаллергенной формулы, обогащенной пребиотиками (кцГОС и длФОС), у детей, находящихся на искусственном вскармливании, с высоким риском развития атопии. Проспективное двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование включило 259 детей, с момента рождения лишенных грудного молока. В течение 6 мес одна группа детей получала специализированный продукт с пребиотиками, другая — такой же продукт, но без пребиотиков. Результаты исследования показали, что общая заболеваемость атопическим дерматитом за период наблюдения встречалась значительно реже у детей, получавших гипоаллергенную формулу, обогащенную пребиотиками, по сравнению с детьми контрольной группы. Пребиотические добавки в формуле

ассоциировались со значительно большим количеством фекальных бифидобактерий. Существенных различий в числе фекальных лактобацилл у детей основной и контрольной группы не обнаружено [58].

S. Arslanoglu (2008) опубликовал результаты двухлетнего наблюдения за детьми, вошедшими в вышеописанное исследование. Показатели общей заболеваемости атопическим дерматитом, крапивницей, рецидивов свистящего дыхания и аллергического ринита у детей группы контроля были выше, чем у детей основной группы ($p < 0,05$) [59]. Авторы пришли к выводу, что пребиотики могут модулировать послеродовое развитие иммунной системы путем изменения кишечной микробиоты. Однако установить механизмы иммуномодулирующего действия пребиотиков по полученным данным не представлялось возможным.

Иммуномодулирующий эффект пребиотических добавок в детском питании был также оценен при помощи иммунологического исследования фекальных образцов. В группе детей, получавших адаптированную молочную смесь, обогащенную пребиотиками (кцГОС и длФОС), содержание sIgA в фекальных образцах было достоверно выше, чем в группе сравнения ($p < 0,001$) [60].

Роль пробиотика в комбинации с пребиотиком в первичной профилактике атопии представлена в клинической работе К. Куккопен и соавт. (2007). Рандомизировано 1223 беременных, вынашивавших детей с высоким риском развития атопии. В течение 2–4 нед до родов женщины основной группы получали пробиотический препарат, женщины группы сравнения — плацебо. Сразу после рождения и в течение первых 6 мес жизни дети, рожденные женщинами основной группы, получали такой же пробиотический препарат, а также пребиотическую добавку (кцГОС). Дети, рожденные женщинами из группы сравнения, как и их матери, получали плацебо.

Результаты обследования детей в возрасте 2 лет показали, что прием пробиотика в сочетании с пребиотиком по сравнению с плацебо:

- не влияет на кумулятивную частоту аллергических заболеваний;
- обеспечивает снижение частоты и степени тяжести IgE-связанных (атопических) заболеваний и экземы;
- не влияет на развитие сенсибилизации в первые 2 года жизни [61].

ПРЕБИОТИКИ И ИНФЕКЦИИ

Е. Bruzzese и соавт. (2006) провели клиническое исследование, в котором здоровые младенцы от 15 до 120-дневного возраста были рандомизированы для получения либо стандартной детской формулы с пребиотиками (инулин и кцГОС в соотношении 9:1), либо молочной формулы без пребиотиков. Через 3, 6, 9 и 12 мес были собраны данные об эпизодах поражения пищеварительного и респираторного тракта. У детей, получавших стандартную молочную формулу, обогащенную пребиотиками, в течение 12 мес зарегистрировано значительно меньше эпизодов поражения кишечника и дыхательных путей [62].

Частота встречаемости инфекций у детей на протяжении первых 2 лет жизни была оценена в исследовании, выполненном под руководством S. Arslanoglu (2007, 2008). В нем приняли участие дети с отягощенным аллергологическим анамнезом, находящиеся на искус-

ственном вскармливании. Детей рандомизировали на 2 группы: в течение 6 мес участники из основной группы получали адаптированную формулу на основе частично-гидролизованного молочного белка с содержанием инулина и кцГОС (8 г на 1 л готового продукта в соотношении 9:1), дети группы сравнения — аналогичную формулу без инулина и кцГОС.

За двухлетний период наблюдения частота эпизодов острых респираторных и кишечных инфекций, а также суммарная частота повторных респираторных инфекций и необходимость назначения антибактериальных препаратов у детей основной группы были достоверно ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) [59, 63].

Клиническая работа, выполненная под руководством J. M. Saavedra (2002), демонстрирует, что использование в рационе детей первых 2 лет жизни каши, обогащенной олигофруктозой, оказывает положительный эффект на сопротивляемость организма инфекции [64].

Предварительный прием пребиотиков способен снизить частоту и уменьшить тяжесть диарейного синдрома у лиц, выезжающих в страны с высокой или средней степенью риска развития т.н. диареи путешественников. В клиническом исследовании с участием 244 здоровых людей с высокой степенью достоверности ($p < 0,05$) показано, что ежедневный прием 10 г инулина в течение 2 нед до поездки и 2 нед во время путешествия либо 5,5 г олигофруктозы в течение 1 нед до поездки и в течение всего срока поездки в страны с низким или высоким риском развития диареи путешественников уменьшает распространенность и тяжесть диарейного синдрома [42, 65].

В эксперименте исследован эффект, который оказывает диетологическая добавка пребиотиков (кцГОС, длФОС и ППОС) на первичный иммунный ответ после интраназального заражения мышей респираторно-синцитиальным вирусом (RSV). Пищевую дотацию мышам начинали в трехнедельном возрасте и продолжали до конца эксперимента. Через 6 нед после начала диетотерапии мыши были инфицированы вирусом. На секционном материале было установлено, что диетологическая добавка пребиотиков значительно увеличивает процент вирусспецифического интерферона (ИФН) γ , индуцирующего синтез CD4+ Т клеток, что обеспечивает усиление специфического противовирусного иммунного ответа [66].

В одной из последних экспериментальных работ продемонстрировано, что введение в пищевой рацион пребиотиков может предотвратить развитие такой серьезной кишечной инфекции, как сальмонеллезный энтерит. Исследовали секционный материал экспериментальных животных, подвергшихся массивной контаминации *Salmonella enteritidis* serovar *typhimurium*. Предварительно в течение 2 нед крысы дополнительно к своему рациону получали пребиотическую добавку (инулин и олигофруктозу). На секционном материале изучали транслокацию возбудителя, содержание общего и специфического sIgA. Результаты иммунологического и генно-молекулярного анализа показали, что пик синтеза общего и специфического sIgA происходит без транслокации патогена во внутреннюю среду, параллельно отмечается увеличение содержания ИЛ 6 и макрофагального α_1 -протеина, а также усиление экспрессии рецепторов CD206 и TLR4. На основании полученных данных ученые пришли к заключению, что профилактический

эффект пребиотиков может быть обусловлен формированием неспецифической устойчивости интестинального барьера [67].

ПРЕБИОТИКИ И ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Положительное влияние пребиотиков на поствакцинальный иммунный ответ установил A. Firmansyach (2000). В двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании автор рандомизировал 50 детей в возрасте от 7 до 9 мес. Основная группа детей на протяжении 10 нед (4 нед до вакцинации и 6 нед после) ежедневно получала 1–2 порции каши, которая содержала инулин и олигофруктозу. Группа сравнения получала обычную кашу. Спустя 4 нед дети были вакцинированы коревой вакциной. Через 6 нед после вакцинации у них была взята кровь для определения концентрации специфических противокоревых иммуноглобулинов класса G. Результаты иммуноферментного анализа показали, что титр коревых поствакцинальных антител у детей основной группы вырос в 6,6 раза, а у детей группы сравнения — в 4,2 раза. На основании полученных данных авторы сделали вывод, что регулярное потребление продуктов, обогащенных пребиотиками, может позитивно сказаться на поствакцинальном иммунном ответе [68].

Поскольку пребиотическая дотация, как показали M. V. Lukens и соавт. (2006), усиливает T_{H1} -ответ при первичном инфицировании RSV, позднее была проведена оценка влияния пребиотиков (кцГОС, длФОС и ППОС) на баланс T_{H1}/T_{H2} . Для этого использовали не только зараженных мышей, но модель мышинной инактивированной формалином (FI)-PCV вакцины. Диетическое вмешательство начинали за 2 нед до вакцинации и продолжали до конца эксперимента. На 35-й день после вакцинации мышей инфицировали RSV.

При исследовании образцов секционного материала (бронхоальвеолярный лаваж и суспензия легочной ткани) было установлено, что клеточная инфильтрация в респираторном тракте и приток эозинофилов к очагу воспаления достигали пика на 6-й день после инфицирования и были значительно ($p < 0,05$) ниже у мышей, получавших пребиотическую добавку по сравнению с контрольными мышами.

Содержание цитокинов (ИЛ 4, 5 и 13), которые синтезируются T_{H2} , на 6-й день после заражения у мышей основной группы было достоверно ниже, чем у животных контрольной группы. В этой модели абсолютное число CD4+ Т клеток, которые синтезировались под влиянием специфического ИФН γ , оставалось неизменным, в то время как процентное содержание этих клеток демонстрировало картину, характерную для первичного инфицирования. На 8-й день после инфицирования зарегистрировано увеличение числа вирусспецифических CD8+ Т клеток, достоверно меньшее число вирусных частиц в бронхоальвеолярном лаваже и уменьшение числа системных T_{reg} клеток в легких, селезенке и брыжеечных лимфатических узлах у мышей основной группы по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

В этом исследовании доказано, что диетологическая дотация смесью пребиотиков (с известными свойствами) может регулировать выраженность CD4+ и CD8+ Т-клеточного иммунного ответа у RSV-инфицированных мышей. Модуляция иммунного ответа пребиотика-

ми может способствовать усилению иммунной системы новорожденных и тем самым обеспечивать защиту против вирусных инфекций (например, RSV) в раннем детстве [69].

Таким образом, экспериментальные и клинические данные дают основания утверждать, что включение пребиотиков в рацион питания как взрослых, так и детей может оказывать влияние на разные звенья иммунного ответа.

Спектр продуктов питания, в т. ч. и продуктов прикорма промышленного производства с пребиотиками, велик. Примером могут служить продукты прикорма, производимые транснациональной компанией «Heinz». Компания «Heinz» выпускает для детей раннего возраста линейку продуктов питания, обогащенных природными пребиотиками растительного происхождения (инулин и олиго-

сахариды): низкоаллергенные, безмолочные и молочные каши, фруктовые и овощные пюре, соки с мякотью, печенье. Создана специальная линейка десертных пюре с пребиотиком и кальцием. Количество пребиотика, вносимого в продукты прикорма, широко варьирует. Это позволяет индивидуально подобрать продукт детям с различными диетологическими особенностями и добиться удовлетворительных результатов в профилактике алиментарно-зависимых состояний и заболеваний.

Вместе с тем следует помнить, что использование пребиотиков для модулирования иммунного ответа должно быть дифференцированным с учетом механизма их действия. Для лучшего понимания механизмов иммунорегуляции и максимального воздействия на состояние здоровья, которые оказывают пребиотики, необходимы дальнейшие мультицентровые научные исследования.

REFERENCES

- Shenderov B.A. *Meditsinskaya mikrobnaya ekologiya i funktsional'noe pitanie. Tom II: «Sotsial'no-ekologicheskie i klinicheskie posledstviya disbalansa mikrobnoi ekologii cheloveka i zhivotnykh* [Medical Bacterial Environmental Science and Functional Nutrition. Volume 2: Social, Ecological and Clinical Consequences of Microbial Misbalance of People and Animals]. Moscow, GRANT, 1998. 416 p.
- Suau A., Bonnet R., Sutren M., Godon J.J., Gibson G.R., Collins M.D., Dore J. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65 (11): 4799–4807.
- Egert M., de Graaf A.A., Smidt H., de Vos W.M., Venema K. Beyond diversity: functional microbiomics of the human colon. *Trends Microbiol.* 2006; 14: 86–91.
- Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010; 464 (7285): 59–65.
- Zhu B., Wang X., Li L. Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell.* 2010; 1 (8): 718–725.
- Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargis M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A. *Science.* 2005; 308 (5728): 1635–1638.
- Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011; 473 (7346): 174–180.
- Zoetendal E.G., Akkermans A.D., De Vos W.M. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64 (10): 3854–3859.
- Seksik P., Rigottier-Gois L., Gramet G. et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut.* 2003; 52: 237–242.
- Ly N.P., Litonjua A., Gold D.R., Celedon J.C. Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 127 (5): 1087–1094.
- Sin D.D., Sutherland E.R. Obesity and the lung: 4. Obesity and asthma. *Thorax.* 2008; 63 (11): 1018–1023.
- Koenig J.E., Spor A., Scalfone N., Fricker A.D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L.T., Ley R.E. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; Mar 15; 108 (Suppl. 1): 4578–4585.
- Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007; 5 (7): 177.
- Hummelen R., Vos A.P., van't Land B., van Norren K., Reid G. Altered host-microbe interaction in HIV: a target for intervention with pro- and prebiotics. *Int. Rev. Immunol.* 2010; 29 (5): 485–513.
- Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature.* 2009; 457 (7228): 480–484.
- de Filippo C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (33): 14691–14696.
- Maslowski K.M., Mackay C.R. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat. Immunol.* 2011; 12 (1): 5–9.
- Guarino A., Wudy A., Basile F., Ruberto E., Buccigrossi V. Composition and roles of intestinal microbiota in children. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2012; 25 (Suppl.1): 63–66.
- Biasucci G., Rubini M., Riboni S., Morelli L., Bessi E., Rete-tangos C. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum. Dev.* 2010; 86 (Suppl. 1): 13–15.
- Bezirtzoglou E., Stavropoulou E. Immunology and probiotic impact of the newborn and young children intestinal microflora. *Anaerobe.* 2011; 17 (6): 369–374.
- Guemonde M., Laitinen K., Salminen S. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation. *Neonatology.* 2007; 92: 64–66.
- Mitsou E.K., Kirtzalidou E., Oikonomou I., Liosis G., Kyriacou A. Fecal microflora of Greek healthy neonates. *Anaerobe.* 2008; 14 (2): 94–101.
- Bulatova E.M., Gabrusskaya T.V., Netrebenko O.K. *Pediatrics im. G.N. Speranskogo — PEDIATRIYA.* 2007; 111 (3): 84–89.
- Bulatova E.M., Volkova I.S., Netrebenko O.K. *Pediatrics im. G.N. Speranskogo — PEDIATRIYA.* 2008; 87 (5): 82–86.
- Roberfroid M.B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71 (6) Suppl.: 1682–1687.
- Jirillo E., Jirillo F., Magrone T. Healthy effects exerted by prebiotics, probiotics, and symbiotics with special reference to their impact on the immune system. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2012; 82 (3): 200–208.
- Morrow A.L., Ruiz-Palacios G.M., Altaye M., Jiang X., Guerrero M.L., Meinen-Derr J.K., Farkas T., Chaturvedi P., Pickering L.K., Newburg D.S. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J. Pediatr.* 2004; 145 (3): 297–303.
- O'Connell Motherway M., Kinsella M. Transcriptional and functional characterization of genetic elements involved in galactooligosaccharide utilization by *Bifidobacterium breve* UCC2003. *Microb. Biotechnol.* 2013; 6 (1): 67–79.
- Garrido D., Ruiz-Moyano S. Utilization of galactooligosaccharides by *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* isolates. *Food Microbiol.* 2013; 33 (2): 262–270.
- Satoh T., Odamaki T. *In vitro* comparative evaluation of the impact of lacto-N-biose I, a major building block of human milk oligosaccharides, on the fecal microbiota of infants. *Anaerobe.* 2013; 19: 50–57.
- Vandenplas Y. Oligosaccharides in infant formula. *Brit. J. Nutr.* 2002; 87 (Suppl. 2): 293–296.
- Boehm G., Stahl B. Oligosaccharides. In: T. Mattila-Sandholm (ed.). *Functional Dairy products. Cambridge: Woodhead Publ.* 2003. P. 203–243.

33. Bode L., Kunz C., Strobel S., Klein N. Human milk oligosaccharides reduce plat Rudloff Selet-neutrophil complex formation leading to a decrease in neutrophil beta 2 integrin expression. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 76 (4): 820–826.
34. Field C.J. The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J. Nutr.* 2005; 135 (1): 1–4.
35. Masjedi M., Tivey D.R., Thompson F.M., Cummins A.G. Activation of the gut-associated lymphoid tissue with expression of interleukin-2 receptors that peaks during weaning in the rat. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1999; 29 (5): 556–562.
36. Contor L., Asp N.G. Process for the assessment of scientific support for claims on foods (PASSCLAIM) phase two: moving forward. *Eur. J. Nutr.* 2004; 43 (Suppl. 2): 3–6.
37. Cummings J.H., Antoine J.M., Azpiroz F., Bourdet-Sicard R., Brandtzaeg P., Calder P.C., Gibson G.R., Guarner F., Isolauri E., Pannemans D., Shortt C., Tuijelaars S., Watzl B. PASSCLAIM — gut health and immunity. *Eur. J. Nutr.* 2004; 43 (Suppl. 2): 118–173.
38. Gibson G.R., Roberfroid M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 1995; 125: 1401–1412.
39. Leach J.D., Sobolik K.D. High dietary intake of prebiotic inulin-type fructans in the prehistoric Chihuahuan desert. *Brit. J. Nutr.* 2010; 103: 1158–1561.
40. Van Loo J., Coussemant P., de Leenheer L., Hoebregs H., Smits G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1995; 35: 525–552.
41. Langlands S.J., Hopkins M.J., Coleman N., Cumming J.H. Prebiotic carbohydrates modify the mucosa associated microflora of the human large bowel. *Gut.* 2004; 53: 1610–1616.
42. Cumming J.H., Christie S., Cole T.J. A study of fructo-oligosaccharides in the prevention of traveller's diarrhoea. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2001; 15: 1139–1145.
43. Gibson G.R., Beatty E.R., Wang X., Cummings J. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology.* 1995; 108: 975–982.
44. Geier M., Butler R., Howarth G. Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and symbiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 2007; 115: 1–11.
45. Lindsay J.O., Whelan K., Stagg A.J., Gobin P., Al-Hassi H.O., Rayment N., Kamm M.A., Knight S.C., Forbes A. Clinical, microbiological and immunological effects of fructo-oligosaccharide in patients with Crohn's disease. *Gut.* 2006; 55: 348–355.
46. Welters C.F.M., Heineman E., Thunnissen B.J.M. Effect of dietary inulin supplementation on inflammation of pouch mucosa in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. *Dis. Colon Rectum.* 2002; 45: 621–627.
47. Garcia-Peris P., Velasco C., Lozano M.A., Moreno Y., Paron L., de la Cuerda C., Breton I., Cambor M., Garcia-Hernandez J., Guarner F., Hernandez M. Effect of a mixture of inulin and fructo-oligosaccharide on lactobacillus and bifidobacterium intestinal microbiota of patients receiving radiotherapy; a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr. Hosp.* 2012; 27 (6): 1908–1915.
48. Kon' I.Ya., Abramova T.V., Pustgraev N.N., Konovalova T.S., Kiseleva E.S. *Voprosi prakticheskoi pediatrii — Problems of Practical Pediatrics.* 2008; 3 (4): 76–81.
49. Kon' I.Ya., Kurkova V.I., Abramova T.V., Gul'tikova O.S. *Voprosi prakticheskoi pediatrii — Problems of Practical Pediatrics.* 2010; 5 (2): 29–37.
50. Phoem A.N., Voravuthikunchai S.P. Eleutherine americana as a growth promotor for infant intestinal microbiota. *Anaerobe.* 2013; 20: 14–19.
51. di Bartolomeo F., Startek J.B., van den Ende W. Prebiotics to fight diseases: reality or fiction? *Phytother. Res.* 2012; doi: 10.1002/ptr.4901.
52. Pratt V.C., Tappenden K.A., McBurney M.I., Field C.J. Short-chain fatty acid-supplemented total parenteral nutrition improves nonspecific immunity after intestinal resection in rats. *JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr.* 1996; 20 (4): 264–271.
53. Inan M.S., Rasoulpour R.J., Yin L., Hubbard A.K., Rosenberg D.W., Giardina C. The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF-kappaB activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology.* 2000; 118 (4): 724–734.
54. Arslanoglu S., Moro G.E., Schmitt J., Tandoi L., Rizzardi S., Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J. Nutr.* 2008; 138 (6): 1091–1095.
55. van de Pol M.A., Lutter R., Smids B.S., Weersink E.J., van der Zee J.S. Synbiotics reduce allergen-induced T-helper 2 response and improve peak expiratory flow in allergic asthmatics. *Allergy.* 2011; 66 (1): 39–47.
56. van Hoven E., Ruiter B., Faber J., M'Rabet L., Knol E.F., Stahl B., Arslanoglu S., Moro G., Boehm G., Garssen J. A specific mixture of short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides induces a beneficial immunoglobulin profile in infants at high risk for allergy. *Allergy.* 2009; 64 (3): 484–487.
57. Gruber C., van Stuijvenberg M., Mosca F., Moro G., Chirico G., Braegger C.P., Riedler J., Boehm G., Wahn U. Reduced occurrence of early atopic dermatitis because of immunoactive prebiotics among low-atopy-risk infants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 126 (4): 791–797.
58. Moro G., Arslanoglu S., Stahl B., Jelinek J., Wahn U., Boehm G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. *Arch. Dis. Child.* 2006; 91 (10): 814–819.
59. Arslanoglu S., Moro G.E., Schmitt J., Tandoi L., Rizzardi S., Boehm G. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. *J. Nutr.* 2008; 138: 1091–1095.
60. Scholtens P.A., Alliet P., Raes M., Alles M.S., Kroes H., Boehm G. et al. Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides. *J. Nutr.* 2008; 138: 1141–1147.
61. Kukkonen K., Savilahti E., Haahtela T., Juntunen-Backman K., Korpela R., Poussa T. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 119 (1): 192–198.
62. Bruzzese E., Volpicelli M., Salvini F., Bisceglia M., Lionetti P., Cinquetti M. et al. Early administration of GOS/FOS prevents intestinal and respiratory infections in infants [abstract]. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2006; 42: 95.
63. Arslanoglu S., Moro G.E., Boehm G. Early supplementation of prebiotic oligosaccharides protects formula-fed infants against infections during the first 6 months of life. *J. Nutr.* 2007; 137: 2420–2424.
64. Saavedra J.M., Tschernia A. Human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. *Brit. J. Nutr.* 2002; 87: 241–246.
65. Drakoularakou A., Tzortzis G., Rastall R.A., Gibson G.R. A double-blind, placebo-controlled, randomized human study assessing the capacity of a novel galacto-oligosaccharide mixture in reducing travellers' diarrhoea. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010; 64: 146–152.
66. Lukens M.V., Claassen E.A., de Graaff P.M., van Dijk M.E., Hoogerhout P., Toebes M., Schumacher T.N., van der Most R.G., Kimpfen J.L., van Bleek G.M. Characterization of the CD8+ T cell responses directed against respiratory syncytial virus during primary and secondary infection in C57BL/6 mice. *Virology.* 2006; 15, 352 (1): 157–168.
67. Velez E., Castillo N., Meson O., Grau A., Bibas Bonet M.E., Perdigon G. Study of the effect exerted by fructo-oligosaccharides from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) root flour in an intestinal infection model with Salmonella typhimurium. *Brit. J. Nutr.* 2013; 109 (11): 1971–1979.
68. Firmansyah A., Pramila G., Fassler A., Hashke F., Link-Amster H. Improved humoral response to measles vaccine in infants receiving infant cereal with fructo-oligosaccharides. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000; Abstract 521.
69. Schijf M.A., Kruijsen D., Bastiaans J., Coenjaerts F.E., Garssen J., van Bleek G.M., van't Land B. Specific dietary oligosaccharides increase Th1 responses in a mouse respiratory syncytial virus infection model. *J. Virol.* 2012; 86 (21): 11472–11482.