

О.Л. Лукоянова¹, Т.Э. Боровик^{1, 2}, А.В. Суржик¹¹ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Новые взгляды на понятие «пребиотиков» и их влияние на организм ребенка

Контактная информация:

Лукоянова Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения питания здорового и больного ребенка НМИЦ здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2/62, тел.: +7 (495) 132-26-00, e-mail: anlouk@yandex.ru

Статья поступила: 20.11.2017 г., принята к печати: 26.12.2017 г.

Обнаружение большого количества олигосахаридов в грудном молоке предопределило их использование в составе детских молочных смесей. Наиболее изученным пребиотиком, имитирующим уникальные свойства олигосахаридов грудного молока, является комплекс scGOS/lcFOS. Его эффективность подтверждена в клинических исследованиях. В 2017 г. эксперты Международной научной ассоциации пробиотиков и пребиотиков (ISAPP) приняли новое определение понятия «пребиотиков», что значительно расширило концепцию их использования. Всемирная организация по аллергии рекомендует использовать пребиотики у детей с повышенным риском развития аллергии. Рекомендации основаны на результатах исследований влияния пребиотиков на микробиом кишечника, нарушение состава и функций которого предрасполагает к развитию аллергии. В настоящее время продолжается поиск более перспективных технологий по производству пребиотиков.

Ключевые слова: дети, грудное молоко, олигосахариды, детские молочные смеси, пребиотики, галактоолигосахариды, фруктоолигосахариды.

(Для цитирования: Лукоянова О. Л., Боровик Т. Э., Суржик А. В. Новые взгляды на понятие «пребиотиков» и их влияние на организм ребенка. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16 (6): 516–521. doi: 10.15690/vsp.v16i6.1825)

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение здоровья человека посредством модуляции его микробиома считается современной развивающейся стратегией, которая является частью целостной концепции формирования здорового образа жизни [1]. Исследования показали, что с помощью диетологического вмешательства можно оказать влияние на состав и метаболизм микробных популяций человека [2]. Более 20 лет назад класс соединений, способных «управлять»

микробиотой хозяина, стали называть пребиотиками [3]. Фруктаны (фруктоолигосахариды и инулин) и галактаны (галактоолигосахариды) полностью соответствуют этому определению в связи с их эффектами стимулировать рост *Lactobacillus* и/или *Bifidobacterium* spp. [4].

На сегодняшний день пребиотическая концепция расширяется в связи с современными возможностями изучения микробиома человека, получением новых знаний о его составе и обнаружением новых веществ,

Olga L. Lukoyanova¹, Tatyana E. Borovik^{1, 2}, Aleksandra V. Surzhik¹¹ National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation² Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Reconsidered Concept of «Prebiotics» and Their Impact on the Child's Organism

Detection of a large number of oligosaccharides in breast milk predetermined their use in the composition of infant formula. The most studied prebiotic simulating the unique properties of breast milk oligosaccharides is the scGOS/lcFOS mixture. Its efficacy is confirmed in clinical studies. In 2017, the experts of the International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) adopted a new definition for «prebiotics», which greatly expanded the concept of their application. The World Allergy Organization (WAO) recommends the use of prebiotics in allergy-prone children. The guidelines are based on the results of studies of the influence of prebiotics on the intestinal microbiome, a violation of the composition and functions of which predisposes to the development of allergy. Currently, the search for more promising technologies for the production of prebiotics continues.

Key words: children, breast milk, oligosaccharides, infant formula, prebiotics, galacto-oligosaccharides, fructo-oligosaccharides.

(For citation: Lukoyanova Olga L., Borovik Tatyana E., Surzhik Aleksandra V. Reconsidered Concept of «Prebiotics» and Their Impact on the Child's Organism. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics*. 2017; 16 (6): 516–521. doi: 10.15690/vsp.v16i6.1825)

влияющих на микробную колонизацию. Получены многочисленные свидетельства в пользу благоприятного воздействия пребиотиков на метаболическую активность кишечной микробиоты, консистенцию и частоту стула, а также влияния на некоторые параметры иммунной системы [5–7]. Детская молочная смесь на основе молока сельскохозяйственных животных, не обогащенная олигосахаридами, не обеспечивает этими важными нутриентами ребенка по причинам их относительно низкого содержания и более простой структуры в сравнении с олигосахаридами грудного молока [8].

ОЛИГОСАХАРИДЫ ЖЕНСКОГО МОЛОКА

Олигосахариды грудного (женского) молока представляют собой семейство уникальных структурно разнообразных неконъюгированных гликанов и делятся на фукозилированные и сиалированные. Количество олигосахаридов в женском молоке в сотни раз больше, чем в коровьем молоке. По количеству в грудном молоке — это третий компонент после лактозы и жира (табл. 1) [8]. Однако количество и состав олигосахаридов варьируют в большом диапазоне значений и зависят от возраста женщины, ее расовой принадлежности, группы крови, периода лактации и срока гестации [8, 9].

Выделяют нейтральные — фукозилированные, включая 2'фукозиллактозу (2'FL), и нефукозилированные, включая лакто-N-тетраозу (LNnT), и кислые олигосахариды — сиалированные, включая 3'сиалиллактозу (3'SL) и 6'сиалиллактозу (6'SL) [10]. Синтез олигосахаридов осуществляется гликозил- и фукозилтрансферазами, присутствие которых в клетках молочной железы предопределено генетически. Количественный и качественный состав олигосахаридов также кодируется определенными генами [11]. На сегодняшний день идентифицировано более 1000 различных видов олигосахаридов женского молока. Разнообразие фукозилолигосахаридов с разными связями обуславливает 4 комбинации олигосахаридов. Так, фукозилолигосахаридами α -1,2, α -1,3, α -1,4 синтезируются у большинства женщин европейской популяции — 70%, α -1,3, α -1,4 — у 20%, α -1,2, α -1,3 — у 9%, α -1,3 — у 1% [11].

МЕТАБОЛИЗМ ОЛИГОСАХАРИДОВ ГРУДНОГО МОЛОКА

Метаболизм олигосахаридов грудного молока — сложный многоступенчатый процесс. Важной особенностью олигосахаридов является их устойчивость к гидролизу ферментами желудочно-кишечного тракта. По этой причине большая их часть поступает в неизменном виде в толстую кишку, в которой до 50–65% метаболизируют-

ся путем усвоения кишечными бактериями и гидролиза (с образованием фукозы и сиаловой кислоты) фукозидазами — ферментами грудного молока. До 35–50% олигосахаридов обнаруживается в неизменном виде в фекалиях детей, находящихся на грудном вскармливании [12]. В работах S. Rudloff и соавт. [12, 13] было показано, что ~1% олигосахаридов обнаруживается в неизменном виде в сыворотке крови и моче грудных детей, что свидетельствует об их способности проникать из кишечника в системный кровоток, принимая, по всей видимости, участие в защите ребенка от инфекционных заболеваний не только на всем протяжении желудочно-кишечного тракта, но и на уровне верхних дыхательных путей и мочевыводящей системы [13]. В исследованиях *in vitro* было показано прямое взаимодействие олигосахаридов грудного молока с клетками иммунной системы, а именно с Toll-подобными рецепторами T клеток [14], что также указывает на возможность системного влияния олигосахаридов грудного молока на иммунную систему.

Первоначально олигосахаридами грудного молока были описаны как пребиотический «фактор-бифидус», служащий метаболическим субстратом для роста полезных бактерий и формирования оптимального состава микробиоты кишечника у новорожденного, находящегося на грудном вскармливании [3]. В настоящее время олигосахаридами грудного молока известны как нечто большее, чем просто «пища для микробов». Накопленные данные свидетельствуют о том, что данные углеводы обладают антиадгезивными противомикробными свойствами, служат в качестве рецепторов-ловушек, предотвращающих прикрепление патогенов к поверхности слизистой оболочки кишечника и снижающих риск развития вирусных, бактериальных и паразитарных инфекций [15, 16]. Эта способность олигосахаридов связана с их структурным сходством с рецепторами клеток слизистых оболочек, которые синтезируются при участии тех же ферментов — гликозилтрансфераз [15, 17].

Большая значимость олигосахаридов грудного молока показана в модуляции эпителиального и иммунного клеточного ответа, уменьшении чрезмерной инфильтрации слизистых оболочек организма лейкоцитами, снижении риска развития некротического энтероколита [16]. Кроме того, они являются источником сиаловой кислоты, которой принадлежит ключевая роль в развитии головного мозга и когнитивных функций ребенка [18].

Таким образом, результаты изучения уникальных свойств олигосахаридов подтверждают важность длительного использования грудного молока в рационе ребенка, а также необходимость включения ингреди-

Таблица 1. Макронутриенты и олигосахариды зрелого женского и коровьего молока (адаптировано из [8])

Table 1. Macronutrients and oligosaccharides of mature breast and cow's milk (adapted from [8])

Ингредиенты	Женское молоко	Коровье молоко
Белок, г/л	10–11	32
Жир, г/л	41	37
Лактоза, г/л	70	48
Олигосахариды, г/л:	5–15	0,05
• фукозилированные, %	50–80	1
• сиалированные, %	10–20	70

тов, имитирующих их свойства, в состав адаптированных молочных смесей для детей, находящихся на искусственном вскармливании.

НОВОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМИНА «ПРЕБИОТИКИ»

Впервые определение пребиотикам было дано G. Gibson и M. Roberfroid в 1995 г. [3], после чего оно многократно изменялось. В 2017 г. эксперты Международной научной ассоциации пробиотиков и пребиотиков (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, ISAPP) приняли очередное решение о необходимости изменения этого термина. Целью текущего обновления было внести разъяснения для врачей, научных сотрудников и потребителей, облегчить процесс регистрации и создать единую терминологию для будущих исследований данных компонентов пищи. Согласно последнему консенсусу экспертов ISAPP (2017), под «пребиотиком» следует понимать «субстрат, который селективно используется микроорганизмами хозяина, что обеспечивает пользу для его здоровья» [19]: такое определение значительно расширяет и изменяет представления о пребиотиках.

В настоящее время под пребиотиками может подразумеваться любое вещество (в том числе не углеводного происхождения), благоприятные эффекты которого совсем не обязательно должны быть связаны с желудочно-кишечным трактом. Комментируя потенциальные эффекты, оказываемые пребиотиками на здоровье, эксперты отметили их положительное влияние на желудочно-кишечный тракт (ингибирование патогенов, иммунная стимуляция), а также кардиометаболизм (снижение уровня липопротеидов в крови, влияние на инсулинорезистентность), психическое здоровье (метаболиты, влияющие на функцию головного мозга, когнитивное развитие), костную систему (повышение биодоступности минеральных веществ). Кроме того, подчеркивается, что хотя современные пребиотики назначаются перорально, они также могут применяться непосредственно на участки тела, колонизированные микроорганизмами, такие как вагинальный тракт или кожа [19]. В документе также указывалось, что вместе с признанными пребиотиками — производными углеводов (галакто-, фрукто-, ксилоолигосахариды, инулин и т.д.) — пребиотические свойства имеют такие вещества, как полифенолы, конъюгированные жирные кислоты, полученные из полиненасыщенных жирных кислот [19].

ПРЕБИОТИКИ И АЛЛЕРГИЯ

Ожидается, что продолжающиеся исследования влияния пребиотиков на кишечный микробиом позволят расширить показания к их применению. Так, в рекомендациях Всемирной организации по аллергии (World Allergy Organisation, WAO), опубликованных в 2016 г., была отмечена важность использования пребиотиков у детей с повышенным риском развития аллергии, находящихся на искусственном вскармливании [20].

Большой интерес представляют международные рекомендации по бронхиальной астме у детей (Practical Allergology, PRACTALL; 2017), которые объединили последние научные данные в области аллергологии и иммунологии под эгидой Европейской академии аллергии

и клинической иммунологии (European Academy of Allergy and Clinical Immunology, EACCI) и Американской академии аллергии, астмы и иммунологии (American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, AAAAI) [21]. Документ посвящен анализу роли микробиома у пациентов с астмой, атопическим дерматитом и пищевой аллергией. Результаты исследований показали, что характер кишечной микробиоты косвенным образом может оказывать влияние и на состояние респираторного тракта. Так, в исследовании A. Trompette и соавт. впервые был продемонстрирован потенциальный механизм влияния кишечной микробиоты на аллергический воспалительный процесс в респираторном тракте [22]. У мышей, получавших диету с высоким содержанием пищевых волокон, увеличивалось число *Bacteroidetes*, продуктами жизнедеятельности которых являются короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, бутират, пропионат), уменьшались инфильтрация слизистой оболочки лейкоцитами и число эозинофилов, снижался титр антител IgE и IgG1 к клещам домашней пыли, что указывало на снижение активности воспалительного процесса в легочных путях на фоне воздействия аллергена. Дополнительное введение в рацион мышей пропионата также снижало основные показатели аллергического воспаления в легких. Аллергопротективный эффект пропионата был обусловлен влиянием на гемопоэз дендритных клеток и зависел от рецепторов, сопряженных с белком GPR41, в результате чего подавлялась индуцированная дендритными клетками Th2 дифференцировка клеток. При диете с низким содержанием пищевых волокон понижалось разнообразие кишечной микробиоты, уменьшалась концентрация короткоцепочечных жирных кислот в крови, а инфильтрация слизистой оболочки лейкоцитами, эозинофилами и уровень цитокинов (IL 4, 5, 13, 17A), напротив, увеличивались, что в целом обуславливало риск развития аллергического воспаления [22].

ОЛИГОСАХАРИДЫ В ДЕТСКИХ МОЛОЧНЫХ СМЕСЯХ

Грудное молоко характеризуется содержанием большого числа олигосахаридов, обычная детская молочная смесь не содержит в своем составе подобных ингредиентов. В настоящее время наибольшая доказательная база клинической эффективности представлена именно в отношении пребиотиков класса галакто- и фруктоолигосахаридов. Галактоолигосахариды представляют собой галогенные олигомеры, которые синтезируются из лактозы путем ферментативного трансгалактозилирования с использованием β -галактозидазы из дрожжей или бактерий и лактозы в качестве субстрата [23]. Фруктоолигосахариды представляют собой, главным образом, связанные с фруктозой олигомеры инулина, часто извлекаемого из растений семейства *Compositae* — цикория. Но их также можно синтезировать с помощью трансфруктозилирования с использованием β -фруктозидаз из дрожжей или бактерий и сахарозы в качестве субстрата [24]. Важно отметить, что гало- и фруктоолигомеры не представлены естественным образом в материнском молоке. Они не являются фукозилированными или сиалированными, но, несмотря на их структурные

различия с олигосахаридами грудного молока, их применение самым положительным образом влияет на состав микробиоты кишечника младенцев, регулирует частоту и консистенцию стула [25].

Наиболее изученным на сегодняшний день пребиотиком с доказанными эффектами, имитирующим многие преимущества олигосахаридов грудного молока, является комплекс scGOS/lcFOS. В 2001 г. этот комплекс был одобрен Европейским научным комитетом по питанию (Scientific Committee on Food, SCF) для добавления в детские смеси [26]. В 2006 г. Европейская комиссия (European Commission, EC) [27], а в 2014 г. Европейское агентство по безопасности продуктов питания (European Food Safety Authority, EFSA) [28] подтвердили возможность добавления scGOS/lcFOS в детские смеси в количестве 0,8 г/100 мл в соотношении 9:1.

В многочисленных исследованиях с участием как здоровых, так и недоношенных детей с высоким и низким риском развития аллергии, а также детей с функциональными нарушениями пищеварения были доказаны следующие **клинические эффекты комплекса scGOS/lcFOS**:

- бифидогенный эффект и нормализация частоты и консистенции стула [4];
- снижение частоты инфекционных заболеваний и длительности антибактериальной терапии [29];
- аллергопротективный эффект (снижение частоты развития атопического дерматита, бронхообструктивного синдрома, крапивницы) [30, 31];
- модуляция местного иммунного ответа за счет увеличения выработки sIgA [6].

Важно отметить, что комплекс scGOS/lcFOS полностью соответствует новым критериям пребиотиков, предложенным экспертами Научной ассоциации по пре- и пробиотикам (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics, ISAPP) в 2017 г. [19].

Учитывая уникальность структуры олигосахаридов женского молока, полное их воспроизведение на сегод-

няшний день в лабораторных условиях считается невозможным. Однако ученые продолжают разрабатывать новые методы получения различных олигосахаридов, повторяющих структуру олигосахаридов грудного молока. Например, в исследовании G. Sprenger и соавт. применялся метод (химико-)ферментативного синтеза или биотрансформации целых клеток с рекомбинантными бактериальными клетками. При этом в зависимости от применяемого фермента получали фукозилированные или сиалированные олигосахара [32]. Также было описано производство олигосахаридов грудного молока с использованием рекомбинантных бактерий *Escherichia coli*, полученных методами биологической инженерии [33]. При этом был выявлен дозозависимый эффект на рост бифидобактерий, аналогичный таковому в исследованиях с применением комплекса галакто- и фрукто-олигосахаридов [34].

В 2012 г. было опубликовано исследование с результатами биотехнологического изготовления двух из десяти наиболее часто встречающихся олигосахаридов женского молока — 2'FL и LNnT — путем ферментации с применением 2'-фукозиллактозы и лакто-N-неотетраозы [8]. Хотя безопасность этих олигосахаридов ранее была установлена в доклинических исследованиях [35, 36], клинические данные о влиянии этих пребиотических комбинаций на младенческий рост и переносимость остаются крайне ограниченными [37, 38]. В исследовании G. Руссио и соавт. была показана безопасность и хорошая переносимость комплекса 2'FL+LNnT в детских смесях у здоровых детей [38]. Указанные олигосахараиды были добавлены в детскую смесь в полном соответствии с их концентрацией и соотношением в грудном молоке, однако общая концентрация олигосахаридов в смеси была намного меньше таковой в грудном молоке. Сравнительная характеристика олигосахаридов грудного молока, комплекса scGOS/lcFOS и комбинации 2'FL+LNnT представлена в табл. 2.

Таблица 2. Сравнительная характеристика олигосахаридов грудного молока, комплекса scGOS/lcFOS и комбинации 2'FL+LNnT
Table 2. Comparative characteristics of breast milk oligosaccharides, scGOS/lcFOS complex and combination of 2'FL+LNnT

Показатели	Олигосахараиды грудного молока	Комплекс Nutricia scGOS:lcFOS (9:1)	Комбинация 2'FL + LNnT
Короткоцепочечные олигосахараиды (КЦ)	Да	Да	Да
Длинноцепочечные олигосахараиды (ДЦ)	Да	Да	Нет
Соотношение КЦ:ДЦ	9:1	9:1	-
Число видов	> 1000	0 (> 100 видов GOS и FOS)	2
Концентрация 2'FL	1,1–4,3 г/л	-	1 г/л
Концентрация LNnT	0,1–0,6 г/л	-	0,5 г/л
Общая концентрация олигосахараидов в ГМ или ДМС	12–13 г/л (в ГМ)	8 г/л (в ДМС)	1,5 г/л (в ДМС)
Процесс производства	Естественное содержание в грудном молоке	scGOS: из лактозы lcFOS: из корня цикория	Биотехнологический синтез, ферментация
Число клинических исследований	Многочисленные	30	2

Примечание. ГМ — грудное молоко, ДМС — детская молочная смесь.
Note. * ГМ — breast milk; ** ДМС — infant formula.

В настоящее время продолжается поиск альтернативных компонентов с пребиотическими эффектами. Так, в недавнем исследовании с участием недоношенных детей в качестве пребиотической добавки к молочной смеси оценивалась эффективность применения клеверного меда (после специальной обработки) как источника фруктоолигосахаров. В фекалиях детей, получающих смесь, обогащенную медом, было обнаружено значимое увеличение количества колоний *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus* и уменьшение численности *Enterobacteriaceae* по сравнению с детьми, не получавшими эту добавку [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пребиотики оказывают положительное влияние на здоровье человека. Их применение должно стать частью комплексного подхода к профилактике и лечению отдельных заболеваний, а также для организации рационального питания и здорового образа жизни. Ввиду расширяющихся возможностей применения пребиотиков и необходимости выпуска их в промышленных объемах, в том числе в качестве необходимого ингредиента для детских молочных смесей, остаются актуальными поиски наиболее перспективных технологий по их производству. Несмотря на появление новых возможностей лабораторного синтеза пребиотических субстанций, на сегодняшний день комплекс scGOS/lcFOS остается наиболее изученным в большом числе клинических исследований, проведенных с участием детей. Для изучения безопасности эффективных доз и комбинаций пребиотиков требуются дальнейшие научные исследования. Необходимо сосредоточиться на изучении механизмов действия пре-

биотиков, характеристике факторов, влияющих на их функции, получении нового знания о связи структуры пребиотиков с оказываемыми эффектами на здоровье человека.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья опубликована при поддержке компании «Нутриция».

FINANCING SOURCE

The article has been published with the support of Nutricia.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

О. Л. Лукоянова — проведение научно-исследовательских работ при поддержке компаний Nestle, Heinz, Хироу Рус, Philips.

Т. Э. Боровик — проведение научно-исследовательских работ при поддержке компаний Nestle, Heinz, Хироу Рус, Philips.

А. В. Суржик — проведение научно-исследовательских работ при поддержке компании Nutricia.

CONFLICT OF INTERESTS

Oiga L. Lukoyanova — conducting research works with the support of Nestle, Heinz, Hero Rus, Philips.

Tatyana E. Borovik — conducting research works with the support of Nestle, Heinz, Hero Rus, Philips.

Aleksandra V. Surzhik — conducting research works with the support of Nutricia.

ORCID

О. Л. Лукоянова <http://orcid.org/0000-0002-5876-691X>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Prescott SL, Logan AC, Millstein RA, Katszman MA. Biodiversity, the human microbiome and mental health: moving toward a new clinical ecology for the 21st Century? *International Journal of Biodiversity*. 2016;2016:2718275. doi: 10.1155/2016/2718275.
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014; 505(7484):559–563. doi: 10.1038/nature12820.
- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125(6):1401–1412.
- Dosage-related bifidogenic effects of galacto- and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;34(3):291–295. doi: 10.1097/00005176-200203000-00014.
- Knol J, Scholtens P, Kafka C, et al. Colon microflora in infants fed formula with galacto- and fructo-oligosaccharides: more like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(1):36–42.
- Scholtens PA, Alliet P, Raes M, 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(6):1141–1147.
- van Hoffen E1, Ruiters B, Faber J, et al. 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. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01765.x.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology*. 2012;22(9):1147–1162. doi: 10.1093/glycob/cws074.
- Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-function relationship of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr*. 2012;3(3):383S–391S. doi: 10.3945/an.111.001404.
- Bao Y, Chen C, Newburg DS. Quantification of neutral human milk oligosaccharides by graphitic carbon high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Anal Biochem*. 2013;433(1):28–35. doi: 10.1016/j.ab.2012.10.003.
- Thurl S, Henker J, Siegel M, et al. Detection of four human milk groups with respect to Lewis blood group dependent oligosaccharides. *Glycoconj J*. 1997;14(7):795–799.
- Rudloff S, Obermeier S, Borsch C, et al. Incorporation of orally applied C-galactose into milk lactose and oligosaccharides. *Glycobiology*. 2006;16(6):477–487. doi: 10.1093/glycob/cwj092.
- Rudloff S, Pohlentz G, Borsch C, et al. Urinary excretion of in vivo 13C-labelled milk oligosaccharides in breastfed infants. *Br J Nutr*. 2011;107(7):957–963. doi: 10.1017/S0007114511004016.
- Vos AP, M'Rabet L, Stahl B, et al. Immune-modulatory effects and potential working mechanisms of orally applied nondigestible carbohydrates. *J Crit Rev Immunol*. 2007;27(2):97–140.
- Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T. Prebiotics in human milk: a review. *Dig Liver Dis*. 2006;38 Suppl 2:S291–294. doi: 10.1016/S1590-8658(07)60013-9.

16. Jantscher-Krenn E, Zherebtsov M, Nissan C, et al. The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotising enterocolitis in neonatal rats. *Gut*. 2013;61(10):1417–1425. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301404.
17. Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk glycobiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108 Suppl 1:4653–4658. doi: 10.1073/pnas.1000083107.
18. Wang B, Brand-Miller J, McVeagh P, Petocz P. Concentration and distribution of sialic acid in human milk and infant formulas. *Am J Clin Nutr*. 2001;74(4):510–515.
19. Gibson G, Hutkins R, Sanders M, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14:491–502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75.
20. Cuello-Garcia CA, Fiocchi A, Pawankar R, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): prebiotics. *World Allergy Organ J*. 2016;9:10. doi: 10.1186/s40413-016-0102-7.
21. Huang YJ, Marsland BJ, Bunyavanich S, et al. The microbiome in allergic disease: current understanding and future opportunities-2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(4):1099–1110. doi: 10.1016/j.jaci.2017.02.007.
22. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med*. 2014;20(2):159–166. doi: 10.1038/nm.3444.
23. Fransen CT, Van Laere KM, van Wijk AA, et al. alpha-D-Glcp-(1->1)-beta-D-Galp-containing oligosaccharides, novel products from lactose by the action of beta-galactosidase. *Carbohydr Res*. 1998;314(1–2):101–114. doi: 10.1016/S0008-6215(98)00285-7.
24. Valdes-Varela L, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M. In vitro fermentation of different fructo-oligosaccharides by *Bifidobacterium* strains for the selection of synbiotic combinations. *Int J Food Microbiol*. 2017;242:19–23. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.011.
25. Vandenplas Y, Ludwig T, Bouritius H, et al. Randomised controlled trial demonstrates that fermented infant formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides reduces the incidence of infantile colic. *Acta Paediatr*. 2017;106(7):1150–1158. doi: 10.1111/apa.13844.
26. ec.europa.eu [Internet]. Additional statement on the use of resistant short chain carbohydrates (oligofructosyl-saccharose and oligogalactosyl-lactose) in infant formulae and in follow-on formulae [cited 2017 Oct 19]. Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out109_en.pdf.
27. fsvps.ru [интернет]. Директива комиссии (ЕС) № 2006/141/ЕС от 22.12.06 о смесях для детского питания первой и второй ступеней, вносящая изменения в Директиву 1999/21/ЕС [доступ от 21.10.2017]. Доступ по ссылке <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/2006-141.pdf>.
28. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae. *EFSA Journal*. 2014;12(7):3760. doi: 10.2903/j.efsa.2014.3760.
29. Bruzzese E, Volpicelli M, Squeglia V, et al. A formula containing galacto- and fructooligosaccharides prevents intestinal and extra intestinal infections: an observational study. *Clin Nutr*. 2009;28(2):156–161. doi: 10.1016/j.clnu.2009.01.008.
30. Gruber C, van Stuivenberg M, Mosca F, et al. Immunoactive prebiotics transiently prevent occurrence of early atopic dermatitis among low-atopy-risk infants. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(6):1696–1698.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2015.07.049.
31. Boyle RJ, Tang ML, Chiang WC, et al. Prebiotic-supplemented partially hydrolysed cow's milk formula for the prevention of eczema in high-risk infants: a randomized controlled trial. *Allergy*. 2016;71(5):701–710. doi: 10.1111/all.12848.
32. Sprenger GA, Baumgartner F, Albermann C. Production of human milk oligosaccharides by enzymatic and whole-cell microbial biotransformations. *J Biotechnol*. 2017;258:79–91. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.07.030.
33. Huang D, Yang K, Liu J, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose through modular pathway enhancement. *Metab Eng*. 2017;41:23–38. doi: 10.1016/j.ymben.2017.03.001.
34. Moro G, Minoli I, Mosca M, et al. Dosage-related bifidogenic effects of galacto-and fructooligosaccharides in formula-fed term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;34(3):291–295.
35. Coulet M, Phothirath P, Constable A, et al. Pre-clinical safety assessment of the synthetic human milk, nature-identical, oligosaccharide lacto-N-neotetraose (LNnT). *Food Chem Toxicol*. 2013;62:528–537. doi: 10.1016/j.fct.2013.09.018.
36. Coulet M, Phothirath P, Allais L. Pre-clinical safety evaluation of the synthetic human milk, nature-identical, oligosaccharide 2'-O-Fucosyllactose (2'FL). *Regul Toxicol Pharmacol*. 2014;68(1):59–69. doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.005.
37. Marriage BJ, Buck RH, Goehring KC, et al. Infants fed a lower calorie formula with 2'FL show growth and 2'FL uptake like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;61(6):649–658. doi: 10.1097/MPG.0000000000000889.
38. Puccio G, Alliet P, Cajazzo C, et al. Effects of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(4):624–631. doi: 10.1097/MPG.0000000000001520.
39. Aly H, Said RN, Wali IE, et al. Medically-graded honey supplementation formula to preterm infants as a prebiotic: a randomized controlled trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64(6):966–970. doi: 10.1097/MPG.0000000000001597.