

С.Г. Макарова^{1, 2}, М.Н. Болдырева^{3, 4}, Т.Е. Лаврова⁵, М.И. Петровская^{1, 2}

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

³ ЗАО НПФ «ДНК-Технология», Москва, Российская Федерация

⁴ Институт иммунологии, Москва, Российская Федерация

⁵ НИИ питания, Москва, Российская Федерация

Кишечный микробиоценоз, пищевая толерантность и пищевая аллергия. Современное состояние проблемы

Contacts:

Makarova Svetlana Gennadievna, PhD, leading research scientist of the Department of Ill and Healthy Child Nutrition of SCCH, professor of the Department of Allergology and Clinical Immunology of Pediatric Faculty of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Address: bld. 1, 2, Lomonosovskii Avenue, Moscow, RF, 119991, Tel.: (495) 967-14-20, e-mail: sm27@yandex.ru

Article received: 09.06.2014, Accepted for publication: 25.06.2014

В обзоре современной литературы подробно рассматривается влияние бактериального фактора, в первую очередь индигенной микрофлоры, на формирование пищевой толерантности, а также иммунного ответа ребенка в целом. Формирование микробиоценоза, пищевой и аутогенной толерантности происходит по общим законам. Особое значение в этом процессе имеет первичная колонизация кишечника и становление разнообразия микрофлоры, которое, как показывают результаты последних исследований, заканчивается к 2–4 годам жизни ребенка. В обзоре рассматриваются основные факторы, действующие на формирование кишечной микробиоты у ребенка как анте- и постнатально, так и на протяжении первых лет жизни, а также их взаимодействие. Обсуждается влияние бактериального фактора на формирование пищевой толерантности и процессы сенсибилизации, а также механизмы этого влияния. Приводятся данные об особенностях состава кишечной микрофлоры у детей с пищевой аллергией, в т. ч. и результаты собственных исследований, посвященных микробиоценозу при пищевой аллергии у детей и разработке дальнейшей тактики их ведения. Рассматриваются основные направления и возможности диетического влияния на состав биоценоза у детей с данной патологией.

Ключевые слова: дети, микробиоценоз кишечника, пищевая толерантность, пищевая аллергия, пребиотики.

(Вопросы современной педиатрии. 2014; 13 (3): 21–29)

В развитии аллергических форм патологии большую роль играет наследственная предрасположенность. Вместе с тем генетические факторы не могут объяснить повышения частоты аллергических реакций на компоненты пищи, которые в последние годы образно называют «второй волной» эпидемии аллергии: на фоне некоторого снижения темпов роста распространенности респираторной аллергии отмечается резкое увели-

чение частоты патологических состояний, связанных с нарушением процессов формирования толерантности к пище [1]. Принято считать, что «первая волна аллергии» в 70–80-е гг. XX в. была связана с современным (западным) образом жизни, воздействием изменения рациона питания, ксенобиотиков пищи, а также загрязнением окружающей среды и др. Остается неясным, почему «волна пищевой аллергии» отстала от «первой

S.G. Makarova^{1, 2}, M.N. Boldyreva^{3, 4}, T.Ye. Lavrova⁵, M.I. Petrovskaya^{1, 2}

¹ Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

³ «DNA-Technology» Research and Production Company, CJSC, Moscow, Russian Federation

⁴ The Institute of Immunology, Moscow, Russian Federation

⁵ Scientific Research Institute of Nutrition, Moscow, Russian Federation

Intestinal Microbiocenosis, Food Tolerance and Food Allergy. Current State of a Problem

In the review of modern literature the influence of a bacterial factor, first of all — indigenous microflora — on formation of food tolerance and immune answer of a child as a whole is in detail considered. Formation of a microbiocenosis, food and autogenic tolerance happens under the general laws. In this process the primary colonization of intestines and formation of a microflora variety which, as results of the last researches show, comes to an end by 2–4 years of life of a child has special value. In the review the major factors influencing the formation of a child intestinal microbiota both antenatal and postnatal and for the first years of life, and also their interaction are considered. The influence of a bacterial factor on formation of food tolerance and sensibilization processes, and also mechanisms of this influence is in detail discussed. The data on features of a structure of intestinal microflora at children with food allergy including the results of own researches devoted to microbiocenosis at children with food allergy and to development of tactics of management of children with this pathology are provided. The main directions and possibilities of dietary influence on biocenosis structure at children with this pathology are considered.

Key words: children, intestinal microbiocenosis, food tolerance, food allergy, prebiotics.

(Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2014; 13 (3): 21–29)

волны» роста распространенности бронхиальной астмы, аллергического ринита и ингаляционной сенсibilизации. В связи с этим изучают возможные факторы, влияющие на характер иммунного ответа ребенка. К таким факторам относят матерей-атопиков, а также изменения в составе кишечной микрофлоры. Как показывают данные современных исследований, среда оказывает эпигенетическое влияние на экспрессию генов иммунного ответа у матери, что в свою очередь может влиять на иммунный ответ ребенка [2–4], повышая риск реализации генетической предрасположенности к заболеваниям, в т. ч. и аллергическим.

Другим фактором, заслуживающим детального рассмотрения, является изменение микробного окружения человека как в среде обитания, так и в составе его микроекосистем. Это связано с тем, что воздействие среды, в т. ч. и микробного окружения, особенно в критические периоды жизни, может прямо или косвенно влиять на иммунный ответ ребенка. D. P. Strachan в предложенной в 1989 г. «гигиенической» гипотезе развития аллергии и в своих последующих исследованиях выдвинул предположение о влиянии факторов окружающей среды, и в частности ранней экспозиции патогенных бактерий, на формирование аллергического иммунотипа [5]. В дальнейшем было показано, что результат воздействия различных микроорганизмов на иммунную систему ребенка может быть разнонаправленным [6, 7]. Иммунологической основой «гигиенической» теории является нарушение баланса T_{H1} - и T_{H2} -иммунного ответа. Несмотря на то, что эта гипотеза аллергии носит достаточно схематичный характер, и в настоящее время результаты многих исследований указывают на то, что аллергический тип иммунного ответа не может быть полностью объяснен дисбалансом дифференцировки хелперов в T_{H1} и T_{H2} , тем не менее она дала толчок к развитию целого направления, посвященного установлению механизмов влияния бактериального окружения на развитие аллергической патологии. В настоящее время показано, что наибольшее влияние на формирование иммунного ответа ребенка имеет не инфекционный фактор, а индигенная микрофлора, в первую очередь кишечный микробиоценоз.

ФОРМИРОВАНИЕ КИШЕЧНОГО БИОЦЕНОЗА РЕБЕНКА

Известно, что человек живет в симбиозе с многочисленными видами микробных организмов, число которых как минимум на порядок превышает число клеток самого человека [8]. Состояние макроорганизма, его питание и окружающая среда в значительной степени сказываются на микробиоценозе. Микроорганизмы, в свою очередь, влияют на устойчивость к патогенам и на здоровье человека через различные процессы, связанные со всеми видами обмена макро- и микронутриентов [8–11].

Значительный прорыв в изучении микробиоценоза был сделан с развитием молекулярно-генетических технологий, которые позволили идентифицировать многочисленные виды бактерий, не поддающиеся культивированию. Для исследования микробной популяции в настоящее время используют метод секвенирования (определение нуклеотидной последовательности) 16S РНК, которая присутствует в геноме всех бактерий, но отсутствует у эукариот и вирусов, и содержит видоспецифические участки, которые и используют для видовой идентификации бактерий [8]. Обнаружено, что не более

24% полученных последовательностей 16S РНК принадлежат известным ранее микроорганизмам. Остальные — это микроорганизмы, не поддающиеся культуральным методам исследования и, соответственно, до последнего времени не изученные. Их роль для организма человека еще предстоит оценить. Расшифровано более 3 млн генов микроорганизмов, что примерно в 150 раз больше набора генов человека, однако, по всей видимости, мы еще далеки от понимания полной микробной картины различных биотопов человека. Предполагается, что бактериальных генов в составе микробиоценозов различных экологических ниш человека около 8 млн, т. е. в 360 раз больше, чем собственно человеческих [12]. При этом кишечный биоценоз обладает как наибольшим разнообразием по числу видов по сравнению с микробиоценозами других экологических ниш, так и наибольшими отличиями между разными индивидуумами [12, 13].

Наиболее изучена в настоящее время полостная микрофлора желудочно-кишечного тракта. Полостной микробиотоп на протяжении желудочно-кишечного тракта неоднороден, его свойства во многом определяются составом и качеством содержимого того или иного отдела пищеварительного тракта. Полостная микрофлора более изменчива, чем мукозальная, чувствительна к различным экзогенным воздействиям. На ее состав в значительной степени влияет питание, в т. ч. поступление с пищей неперевариваемых олигосахаридов и пищевых волокон, которые играют роль питательного субстрата для микроорганизмов и одновременно матрицы, на которой фиксируются и образуют колонии представители облигатной микрофлоры. Главную же биологическую роль играет пристеночная микрофлора кишечника, состав которой может быть оценен только молекулярно-генетическими методами. Пристеночный микробиотоп является важнейшей составляющей кишечного барьера — комплекса структур, ограничивающих внутреннюю среду организма от внешней. Пристеночная микрофлора создает колонии на муциновом слое, расположенном над апикальной мембраной энтероцитов (колоноцитов), при этом образуется своеобразная биологическая пленка, состоящая из микробных тел и экзополисахаридного матрикса. Экзополисахариды микроорганизмов (гликокаликс) защищают микробные клетки от разнообразных физико-химических и биологических воздействий. Слизистая оболочка кишечника также находится под защитой биологической пленки. Между колониями микроорганизмов и иммунокомпетентными клетками кишечной стенки имеется тесная взаимосвязь, что и определяет в наибольшей степени влияние микробиоценоза на формирование иммунного ответа. Слизистая оболочка кишечника обладает собственной лимфоидной тканью, это т. н. ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань (gut-associated lymphoid tissue, GALT), которая представляет собой наиболее значительное скопление иммунных клеток в организме человека. Считается, что в ней содержится приблизительно 80% В-клеток всей иммунной системы. При этом микрофлора участвует в формировании как местного (активация продукции IgA, фагоцитарной активности), так и системного иммунитета [14, 15].

Полостная и пристеночная микрофлора — две неидентичные, но взаимосвязанные популяции [16], между которыми происходит постоянный обмен микроорганизмами, в результате чего формируется индивидуальный вариант нормальной кишечной микрофлоры. Широко применяющиеся и в настоящее время культуральные

методы исследования микрофлоры позволяют составить представление об ограниченном числе видов просветной микрофлоры, тогда как для исследования пристеночной микрофлоры более целесообразно использование методов молекулярно-генетического анализа материала.

Результаты исследований последних лет свидетельствуют, что микробный биоценоз кишечника человека в значительной мере генетически предопределен. Во многом это связано с тем, что бактерии распознаются рецепторами, локализованными в муциновом слое. Своеобразие рецепторов генетически детерминировано, о чем говорит наличие почти полностью идентичной анаэробной и аэробной микрофлоры у однояйцевых (в отличие от разнотельцевых) близнецов. Тем не менее состав микрофлоры зависит от экологических факторов, включая питание макроорганизма [10, 13, 14].

КОЛОНИЗАЦИЯ КИШЕЧНИКА НОВОРОЖДЕННОГО

Кишечник плода считается стерильным, однако первый контакт иммунной системы ребенка с представителями его будущей индигенной флоры происходит внутриутробно: ДНК материнской бактериальной флоры проникает трансплацентарно и попадает в вилочковую железу плода, где образуются предшественники Т-супрессорных клеток. После рождения «обученные» клетки мигрируют из тимуса в лимфоидную ткань кишечника, где происходит их окончательная дифференцировка в Т-супрессорные клетки. Именно они обеспечивают толерантность к тем микроорганизмам, которые во внутриутробном периоде индуцировали у плода формирование клеток-предшественников, т.е. к микрофлоре матери [17]. Существуют также данные о возможной транслокации бактерий в кишечник ребенка в период внутриутробного развития [18].

Чрезвычайно важным как для формирования кишечного микробиоценоза, так и для развития иммунной системы является период первоначальной колонизации кишечника. Очевидно, что нарушения естественного хода заселения кишечника микробиотой имеет отдаленные последствия для иммунной системы в целом. Первоначальная колонизация кишечника является для иммунной системы событием, которое можно расценивать как одно из ключевых жизненных событий. Поступление в кишку естественной флоры индуцирует иммунологические реакции, включающие расширение популяции внутриэпителиальных лимфоцитов с повышением интенсивности пролиферации клеток в криптах [15, 19]. В ворсинках кишки развивается выраженная реакция с индукцией многочисленных генов в энтероцитах и даже стимуляцией ангиогенеза [19, 20]. Заслуживает внимания тот факт, что различные бактерии вызывают экспрессию разных генов, и весьма вероятно, что именно это дает определенные преимущества для бактерий, первоначально заселяющих кишечник.

Причины нарушения нормальной колонизации кишечника у новорожденных довольно хорошо изучены. Прежде всего, это антибиотикотерапия в перинатальном периоде. Применение антибиотиков может иметь весьма отдаленные последствия. Так, показано, что недельный курс клиндамицина приводит к снижению разнообразия бактерий рода *Bacteroides* на протяжении последующих 2 лет [21]. В популяционном исследовании была также показана связь между использованием антибиотикотерапии в детском возрасте и развитием синдрома раздраженной кишки [22].

Оперативное родоразрешение и позднее прикладывание к груди матери также нарушают естественный процесс первичной колонизации ребенка микрофлорой родовых путей и кожи матери, что подтверждается более низким содержанием бифидобактерий в кишечнике младенцев после кесарева сечения [23, 24]. Напротив, естественное течение родов и грудное вскармливание дают важные преимущества для младенца, в число которых входит стимуляция иммунной системы и обеспечение нормальной кишечной флорой. Изменение процесса первичной колонизации может иметь значение для индукции толерантности слизистой оболочки кишечника. По данным клинических исследований [25], снижение количества и разнообразия комменсальной микрофлоры, особенно бифидобактерий, в период становления кишечной микробиоты достоверно увеличивало риск развития атопии у детей первых 18 мес жизни.

РАЗНООБРАЗИЕ КИШЕЧНОГО БИОЦЕНОЗА

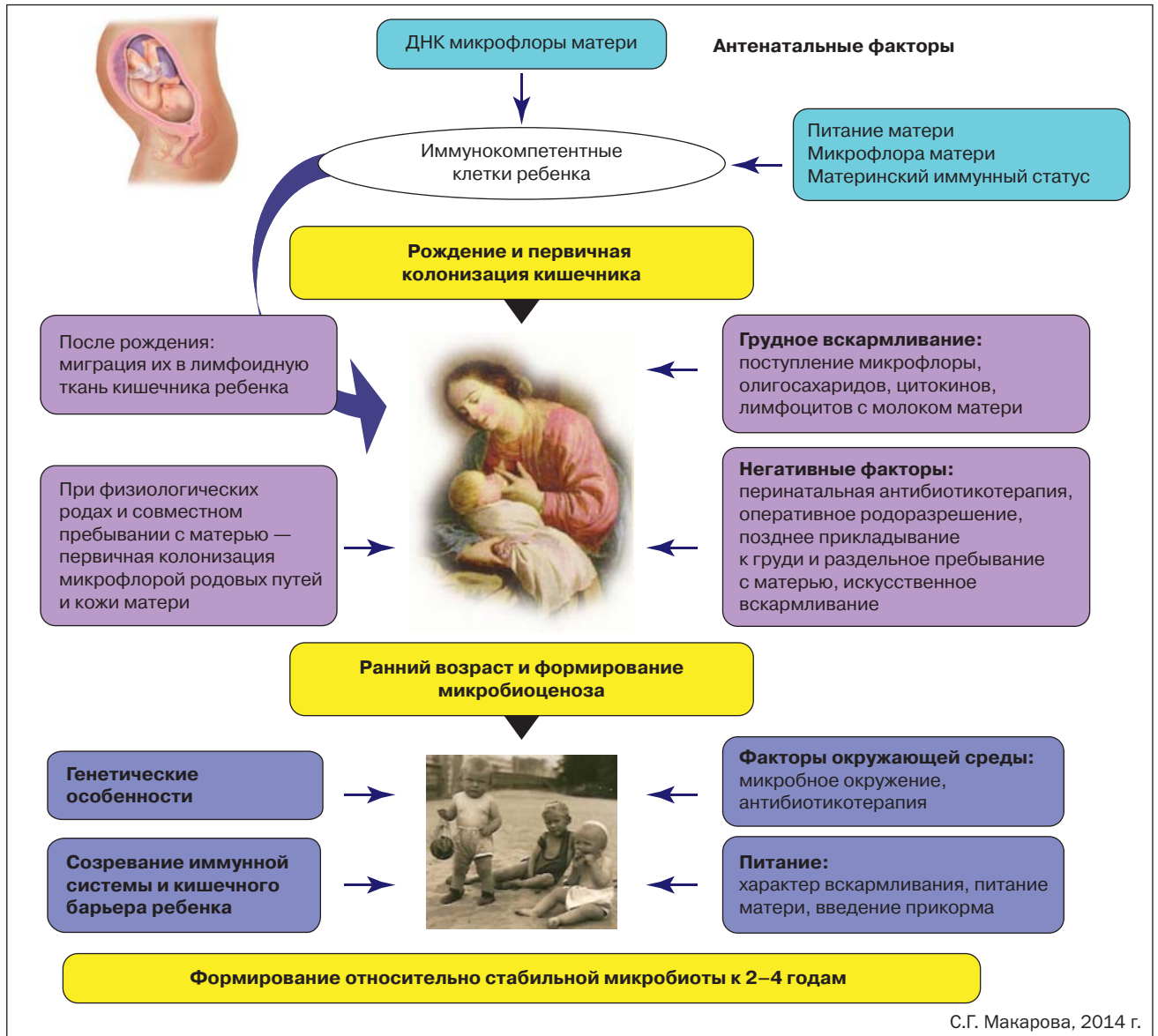
Исследование особенностей биоценоза у детей молекулярно-генетическими методами показало, что разнообразие кишечной микрофлоры у ребенка отличается большей нестабильностью, чем у взрослых. При этом формирование более или менее устойчивого состава микробиоты происходит примерно к 3 годам жизни. Так, в исследовании J.E. Koenig и соавт. [26] была изучена динамика процесса колонизации кишечника на примере одного здорового ребенка, которого наблюдали в течение 2,5 лет. При этом было проанализировано 60 образцов кала. Анализ более чем 300 000 генов 16S рПНК показал, что, несмотря на значительные колебания на протяжении периода наблюдения, разнообразие микрофлоры имеет линейную тенденцию развития. Наиболее существенные изменения в разнообразии микрофлоры были отмечены на фоне лихорадки у ребенка, при смене питания и после приема антибиотика. Если для микробиома первых месяцев жизни были характерны гены, отвечающие за усвоение лактата, то с введением прикорма в микробиоме появились гены, связанные с утилизацией углеводов, биосинтезом витаминов и деградацией ксенобиотиков, отмечался устойчивый рост *Bacteroides*, повышенный уровень фекальных короткоцепочечных жирных кислот, т.е. формировался более стабильный состав микробных сообществ, характерных для микробиома взрослого человека.

Таким образом, индивидуальная микробиота ребенка постепенно формируется под воздействием как генетических, врожденных, так и средовых факторов (рис. 1).

КИШЕЧНАЯ МИКРОФЛОРА И ОРАЛЬНАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Результаты клинических и экспериментальных исследований привели к пониманию важной роли кишечной микрофлоры в индукции толерантности. Адекватный иммунный ответ на пищевые антигены обеспечивается за счет особого состояния пищевой (оральной) толерантности — специфической иммунологической ареактивности к антигену, с которым организм ранее контактировал при энтеральном пути введения. Оральная толерантность формируется в результате комплексной иммунорегуляторной стратегии кишечника и ассоциированной с ним лимфоидной ткани, приводящей к невосприимчивости периферической иммунной системой непатогенных пищевых белков и аутоантигенов. Это необходимый механизм, который поддерживает состояние активной ареактив-

Рис. 1. Влияние средовых факторов на формирование кишечного микробиоценоза



ности на аутоантигены и антигены пищи при сохранении иммунных реакций против патогенов.

Согласно концепции развития оральной толерантности, поступление антигена в высоких дозах приводит к клональной делеции или анергии специфических Т-клеточных клонов с вовлечением в процесс Fas/FasL-зависимого апоптоза, тогда как низкая доза антигена способствует активной супрессии, сопровождающейся индукцией регуляторных Т-клеток [27]. Различные пути индукции толерантности не являются взаимоисключающими, а могут накладываться один на другой. В кишечнике мыши описаны различные подвиды дендритных клеток, определяемые по их экспрессии поверхностных молекул как CD11b, CD11c, CD103, CX3CR1 и CD70. Эти подвиды имеют собственную функциональную специализацию, которая способна направить процесс либо в сторону индукции иммунитета, либо толерантности к поступающим через кишечник антигенам [28]. Например, некоторые подтипы дендритных клеток вовлечены в дифференциацию T_{H1} , T_{H2} и T_{H17} клеток или необходимы для переключения изотипа IgA в В-клетках [29, 30]. С другой стороны, толерогенные CD103(+) дендритные клетки, выделенные из собственной пластинки или мезентери-

альных лимфатических узлов, способствуют развитию Т-регуляторных клеток, которые необходимы для индукции оральной толерантности [31].

Кишечные эпителиальные клетки играют важную роль в запуске дифференцировки дендритных клеток, относящихся к толерогенным фенотипам. Исследования показали, что эпителиальный трансформирующий фактор роста (ТФР) β и ретиноевая кислота необходимы для трансформации CD103 в дендритные клетки, а эпителиально приспособленные дендритные клетки, в свою очередь, способны индуцировать дифференцировку адаптивных Foxp3+ Т-регуляторных клеток со свойствами хоминг-эффекта [32]. T_{H1} и T_{H2} могут реципрокным образом подавлять активность друг друга, но основная роль в установлении баланса T_{H1} и T_{H2} клеток, а также в формировании толерантности отводится в настоящее время регуляторным клеткам, поскольку именно они определяют, будут или нет активироваться Т-клетки в процессе развития реакции в ответ на антиген [33]. Большое значение в регуляторных реакциях имеют цитокины, в частности ТФР β и интерлейкин (ИЛ) 10, которые подавляют активацию иммунных клеток осуществляя «мониторинг толерантности» [33]. Имеются также доказательства, что

клетки CD8, так же как и клетки CD4, могут медирировать системную толерантность, а в процессе контакта с энтероцитами образуется регуляторная популяция CD8+CD28 [34]. Клетки популяции CD4+CD25+Treg подавляют реакции на пищевые антигены, однако в раннем возрасте могут возникнуть трудности при вовлечении этих клеток в качестве основных медиаторов подавления Т-клеток слизистой оболочки, поскольку большое число Т-клеток в раннем грудном возрасте не имеет определенного фенотипа.

Большой интерес представляют также результаты исследования, в котором показано, что у младенцев, сенсibilизированных к белкам коровьего молока и развивших толерантность к возрасту 2–3 лет, отмечалось увеличение числа регуляторных популяций лимфоцитов — CD4+ CD25+ клеток [35]. Все эти данные подтверждают, что кишечные эпителиальные клетки вовлечены в развитие толерогенных дендритных клеток и Т-регуляторных клеток, которые занимают центральное место в индукции оральной толерантности.

В начатых еще в 1960–1980 гг. исследованиях иммунного ответа гнотобионтов — животных, содержащихся в стерильных условиях, показано, что в отличие от животных, выращенных в обычных условиях, гнотобиологические животные не вырабатывают иммунную толерантность по отношению к пищевым антигенам [36, 37]. У безмикробных мышей при пероральном назначении овальбумина T_{x1} -опосредованный ответ (продукция IgG_{2a} и интерферона γ) был снижен, тогда как T_{x2} -опосредованный синтез IgE , IgG_1 и ИЛ 4 оставался на высоком уровне [36]. Примечательно, что оральную толерантность у безмикробных мышей удается восстановить посредством инокуляции лишь одного из штаммов комменсальных бактерий (*Escherichia coli* или *Bifidobacterium infantis*) [37]. Напротив, если мыши получали антибиотики, то это вызывало подавление комменсальных бактерий в молодом возрасте, сопровождалось повышением содержания в плазме крови IgG_1 и IgE и снижением IgG_2 параллельно с повышением секреции IgG_4 в стимулированных клетках селезенки [38]. Выраженный T_{x2} -иммунный ответ у получавших антибиотики мышей удавалось предотвратить посредством заселения кишечника *Enterococcus faecalis* и в меньшей степени *Lactobacillus acidophilus* [39]. Эти данные иллюстрируют роль кишечных комменсальных бактерий в индукции оральной толерантности и профилактике аллергии.

Колонизация кишечника естественной микрофлорой, совпадающая по времени с началом энтерального поступления пищевых антигенов, запускает финальные стадии созревания иммунной системы с преимущественной поддержкой функции T_{x1} -иммунных реакций для достижения необходимой устойчивости баланса T_{x1}/T_{x2} [36, 40]. При этом считается, что толерантность к симбионтной микрофлоре формируется с участием тех же механизмов, что и толерантность к пищевым антигенам [36, 40, 41].

С момента колонизации кишечника начинается формирование симбиотического взаимодействия микрофлоры, эпителия и лимфоидной ткани [40, 41]. Комплекс неспецифических и иммунных факторов в совокупности составляет кишечный барьер, определяющий строго дозированное поступление макромолекул во внутреннюю среду организма и нормальное течение процесса формирования толерантности слизистой оболочки к нормальной микрофлоре и пищевым антигенам. Нарушение первичной колонизации кишечника, причины которого

обсуждались выше, приводят к изменению всего комплекса факторов: нарушают формирование кишечного биоценоза и толерантности к пищевым антигенам. Понимание этого стало основой для «новой», а точнее обновленной «гигиенической» гипотезы [42].

Сигнальные рецепторы, активированные микробно-ассоциированными молекулярными паттернами, способны регулировать реализацию предрасположенности организма к пищевой аллергии. Известно, что полиморфизм CD14-связывающего рецептора для липополисахаридов связан с развитием неатопической астмы и пищевой аллергии [43, 44]. Однако в других исследованиях не получено доказательств генного полиморфизма CD14 и Toll-подобных рецепторов (TLR-2 и TLR-4) при пищевой аллергии [45, 46]. Существует предположение, что особенности иммунного ответа на бактериальные антигены у атопиков связаны с функциональными особенностями у Toll-подобных рецепторов. В одном из исследований выявлена повышенная продукция фактора некроза опухоли (ФНО) α и ИЛ 1 в мононуклеарных клетках пуповинной крови при активации TLR-2, -4 и -5 у новорожденных, у которых позже диагностировали аллергические заболевания. Это свидетельствует о взаимосвязи между повышенным у новорожденных TLR-ответом и развитием аллергии [47].

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ФАКТОРА НА РАЗВИТИЕ ПИЩЕВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ОРГАНИЗМА

Если бактерии индигенной флоры способствуют формированию толерантности к пищевым белкам, то патогенные и условно-патогенные бактерии могут усиливать сенсibilизацию. Так, в эксперименте на животных показано, что пероральное введение только одного антигена приводит к формированию оральной толерантности, а введение пищевых белков вместе с бактериальными адьювантами (коклюшный токсин или холерный токсин) — к сенсibilизации организма животных в целом [48, 49]. Одновременное введение токсинов бактериального происхождения с антигенами влияет на экспрессию рецепторов главного комплекса гистосовместимости (МНС II) и костимуляторных молекул на дендритных клетках и индуцирует T_{x2} -ответ с повышением продукции ИЛ 4 и интенсификацией синтеза антигенспецифических IgE и IgG_{2a} [50, 51]. В экспериментальных исследованиях показано, что воздействие холерных токсинов индуцирует аллергическую сенсibilизацию к экстракту арахиса, вызывая сдвиг подвидов дендритных клеток в собственной пластинке и пейеровых бляшках с более провоспалительных CD11b(+) на менее толерогенных CD103(+) клетки [52]. Более того, обнаружена повышенная экспрессия Т-клеточной (иммуноглобулин и муцин) доменной молекулы (TIM-4) в дендритных клетках костного мозга мышей после конкурентного воздействия холерных токсинов и аллергенов арахиса по сравнению с таковыми, обработанными только одними аллергенами [53]. Адаптивный перенос этих TIM-4-экспрессирующих дендритных клеток сенсibilизировал наивных мышей к орально назначаемым аллергенам арахиса, что сопровождалось усилением T_{x2} -цитокинового ответа и повышением титра специфических IgE в сыворотке крови и тканях кишечника [54]. Аналогичный эффект экспрессии рецепторов на кишечных мукосальных дендритных клетках и энтеральная сенсibilизация к овальбумину были обнаружены после воздействия стафилококково-

го энтеротоксина В в качестве адьюванта [55]. Все эти данные свидетельствуют о роли бактериальных токсинов в изменении баланса в сторону T_{H2} -ответа при аллергической сенсибилизации белками пищи.

СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА У ДЕТЕЙ С ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИЕЙ

Приведенные выше факты свидетельствуют о том, что разнообразные и многочисленные взаимодействия в системе микробиоценоз–иммунная система хозяина создают предпосылки к тому, что толерантность к орально поступающим антигенам кишечной микрофлоры и пищевым антигенам формируется при взаимном влиянии этих двух факторов. Результаты исследования преморбидного состояния кишечной микрофлоры у детей, впоследствии развивших симптомы пищевой аллергии, показали, что дисбиоз кишечника и нарушение пищевой толерантности у ребенка являются отражением нарушения одних и тех же процессов в иммунной системе и, соответственно, развиваются параллельно [56, 57]. Дисбиоз кишечника, под которым в настоящее время понимают нарушение соотношения защитной флоры и патобионтов (условно-патогенных бактерий), не являясь нозологической формой, тем не менее может вносить свой вклад в клиническую картину заболеваний, связанных с пищевой аллергией. Представители условно-патогенной группы бактерий могут усиливать проявления пищевой аллергии за счет различных механизмов, включая влияние на проницаемость кишечного эпителия и дифференцировку Т-клеток-хелперов. На рис. 2 в упрощенном виде представлены некоторые факторы кишечного барьера и иммунного ответа в норме (а) и при наличии пищевой аллергии и дисбиоза (б).

По данным исследований, проведенных в Научном центре здоровья детей (Москва), частота отклонений в составе кишечного биоценоза у детей первого года жизни с атопическим дерматитом и аллергией к белку коровьего молока составляет 96,5%, при этом преобладают выраженные нарушения, сопровождающиеся значительным снижением содержания бифидофлоры [58]. Отклонения в аэробном компоненте микробиоты отличаются в зависимости от возраста детей, клинической формы пищевой аллергии и степени тяжести кожного поражения: для детей с кожно-гастроинтестинальными проявлениями пищевой аллергии характерен значительный рост аэробов, наличие ассоциаций условно-патогенной микрофлоры. В группе детей с более выраженными кожными проявлениями (SCORAD > 20 баллов) достоверно чаще, чем у детей легким течением дерматита (SCORAD < 20 баллов), выявляли дисбаланс аэробной группы биоценоза: увеличение общего количества кишечной палочки, доминирование кокковой флоры.

По сути, формируется порочный круг — пищевая аллергия–дисбиоз кишечника, в котором на фоне имеющихся преморбидных особенностей иммунной системы и нарушений становления микробиоценоза развивается пищевая аллергия. Аллергическое воспаление кишечника и сопутствующие нарушения пищеварения при пищевой аллергии приводят к более существенным отклонениям в составе кишечной микрофлоры с увеличением количества представителей условно-патогенной группы бактерий, которые в свою очередь влияют на проницаемость кишечного барьера как непосредственно, так и через провоспалительные цитокины [58].

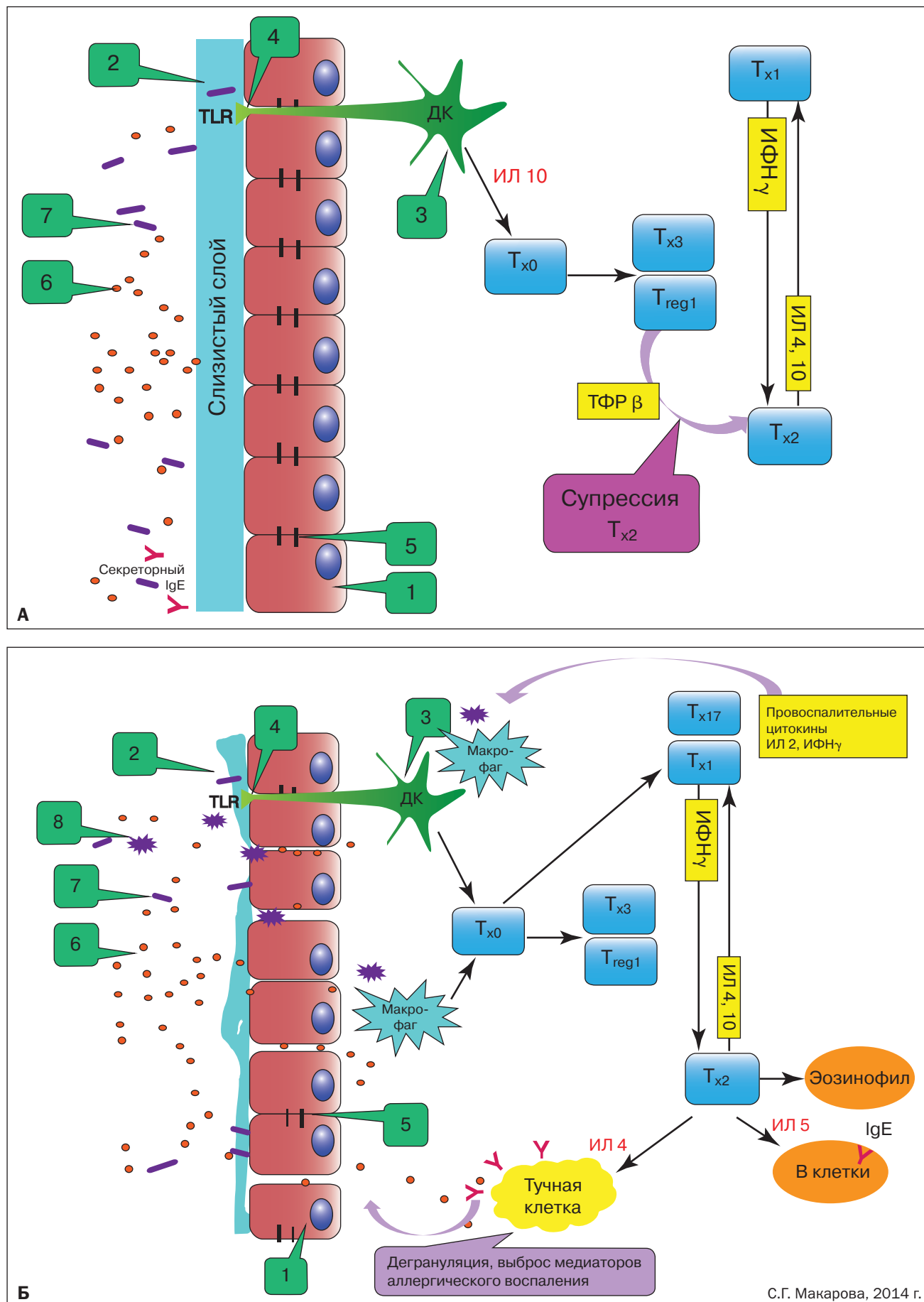
Следует отметить, что адекватное лечение детей с пищевой аллергией строится на элиминации из питания

причинно-значимых белков. Так, основой лечения детей с аллергией к белкам коровьего молока является полное исключение продуктов, содержащих эти белки, на достаточно длительный период времени: согласно всем современным рекомендациям — не менее 6 мес [59–61]. Соответственно, коррекция дисбиотических нарушений у детей с аллергией к белкам коровьего молока возможна только в составе комплексной терапии основного заболевания, включающей элиминационную диетотерапию [58, 59]. Назначение детям безмолочной диеты и адекватной фармакотерапии приводит к нормализации показателей кишечного микробиоценоза без каких-либо дополнительных мероприятий, направленных на его коррекцию [58]. На фоне лечения пищевой аллергии в первую очередь статистически значимо уменьшается частота выявления представителей условно-патогенной микрофлоры, при этом значимого снижения частоты обнаружения дефицита бифидобактерий и лактобацилл не происходит. Дефицит бифидофлоры сохраняется у 50% детей даже с полной клинической ремиссией аллергического заболевания при шестимесячном сроке наблюдения [58]. При этом наиболее полную нормализацию состава кишечного биоценоза отмечают у детей со стойкой клинической ремиссией основного заболевания [58]. Полученные нами данные, по-видимому, должны трактоваться таким образом: избыточный рост условно-патогенной микрофлоры у детей с пищевой аллергией возникает в большей степени вторично на фоне аллергического воспаления кишечника и сопутствующих пищевой аллергии нарушений процессов пищеварения. Именно поэтому отмечается быстрая регрессия этих нарушений на фоне эффективной терапии основного заболевания. У детей со склонностью к атопии дефицит бифидобактерий и лактобацилл, как указано выше, носит преморбидный характер [56, 57]; он может быть связан с особенностями иммунного ответа данной категории детей, нарушениями процессов первичной колонизации и поэтому имеет стойкий характер, сохраняется более длительно. Более того, сохранению дефицита бифидобактерий отчасти может способствовать назначение безмолочной диеты при аллергии к белку коровьего молока, когда из питания полностью исключаются кисломолочные продукты.

Дефицит защитной флоры у детей с пищевой аллергией первых лет жизни может отражать процесс постепенного формирования биоценоза, который, согласно современным представлениям, заканчивается к 2–4 годам жизни [26]. Так, по нашим данным [58], с возрастом, даже при наличии выраженных кожно-гастроинтестинальных проявлений пищевой аллергии, частота дефицита бифидофлоры снижается, составляя 44,4% в группах детей в возрасте 1–3 и 3–10 лет по сравнению с 66,7% у детей первого года жизни.

Возможности дополнительного целенаправленного воздействия на микрофлору кишечника у детей с аллергией к белкам коровьего молока до недавнего времени были весьма ограничены. Так, назначение препаратов-пробиотиков детям с атопическим дерматитом и пищевой аллергией связано с риском развития сенсибилизации и нередко провоцирует развитие аллергических реакций на эти препараты [62, 63]. На основании метаанализов исследований, посвященных использованию пробиотиков для профилактики и лечения аллергии, экспертами сделан вывод о необходимости проведения дальнейших исследований для уточнения оптимальных видов, штаммов, доз и сроков применения.

Рис. 2. Некоторые механизмы кишечного барьера и иммунного ответа в норме (А) и при наличии пищевой аллергии и дисбиоза (Б)



С.Г. Макарова, 2014 г.

Примечание. 1 — клетки кишечного эпителия, 2 — слой слизи, 3 — дендритная клетка, 4 — Toll-подобные рецепторы, 5 — «плотные контакты», 6 — пищевые антигены, 7 — нормальная флора, 8 — патобионты (условно-патогенные бактерии).

В связи с этим более целесообразным представляется использование диетологических подходов: применение продуктов детского питания с добавлением пребиотических олигосахаридов.

Олигосахариды с доказанным пребиотическим эффектом широко используют в молочных смесях для питания здоровых детей, и показана эффективность их добавления в рацион в отношении снижения частоты развития атопического дерматита. Профилактический эффект включения этих компонентов в состав гипоаллергенных смесей для питания детей из группы риска развития пищевой аллергии в отношении аллергической патологии показан в двойном слепом рандомизированном плацебоконтролируемом проспективном исследовании Мого и Arslanoglu, проводившемся с 2006 по 2011 г. [64]. При этом «двойной» профилактический эффект сохранялся как через 2 года, так и в течение пятилетнего периода наблюдения [64].

Однако, как известно, ни молочные, ни гипоаллергенные профилактические смеси на основе умеренно гидролизованного молочного белка не могут использоваться при аллергии к белкам коровьего молока, поэтому ранее считалось целесообразным проводить мероприятия, направленные на коррекцию дисбиотических отклонений по прошествии острого периода пищевой аллергии при достижении хотя бы частичной ремиссии кожных и гастроинтестинальных проявлений. Революционным шагом в диетотерапии аллергии к белкам коровьего молока стало создание лечебных высокогидролизован-

ных смесей, содержащих пребиотические олигосахариды. Применение этих смесей в элиминационном периоде диетотерапии пищевой аллергии позволяет получать «двойной» лечебный эффект уже в остром периоде заболевания, поскольку одновременно достигается лечебный эффект элиминации причинно-значимого аллергена и положительное влияние на защитную микрофлору.

Таким образом, в настоящее время общепризнанным является факт, что формирование иммунного ответа со стороны кишечника и организма в целом происходит в существенной мере под влиянием бактерий, в т. ч. микроорганизмов кишечной группы. Именно поэтому все большее значение в последние годы придают иммунной функции кишечника, которую по значимости для организма приравнивают к его пищеварительной функции. С современных позиций, кишечный биоценоз — это важнейший фактор, принимающий участие в становлении иммунной функции, формировании пищевой толерантности, а также в патогенезе аллергических заболеваний, в первую очередь пищевой аллергии. Однако лечение пищевой аллергии невозможно без элиминационного этапа — полного исключения из питания причинно-значимых белков. Современные возможности диетотерапии — создание новых лечебных продуктов на основе высокогидролизованного молочного белка, обогащенных пребиотиками, — позволяют комплексно подходить к лечению аллергии к белкам коровьего молока и осуществлять элиминацию аллергена и направленное воздействие на микробиоценоз.

REFERENCES

- Prescott S., Allen K.J. Food allergy: riding the second wave of allergy epidemic. *Pediatr. Allergy & Immunology*. 2011; 22 (1): 156–160.
- Namazova-Baranova L.S. *Allergiya u detei: ot teorii k praktike* [Allergy in Children: from Theory to Practice]. Moscow, Soyuz pediatrov Rossii, 2010–2011. 668 p.
- Prescott S.L., Breckler L.A., Witt C.S., Smith L., Dunstan J.A., Christiansen F.T. Allergic women show reduced T helper type 1 alloresponses to fetal human leucocyte antigen mismatch during pregnancy. *Clin. Exp. Immunol.* 2010; 159: 65–72.
- Lehmann I., Herberth G. Cord blood immune status: predicting health or allergy? *Allergy*. 2012; 67 (4): 445–448.
- Strachan D.P. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989; 299: 1259–1260.
- Strachan D.P. Family size, infection and atopy: the first decade of the «hygiene hypothesis». *Thorax*. 2000; 5 (Suppl. 1): 52–59.
- Ramsey C.D., Celedon J.C. The hygiene hypothesis and asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2005; 11: 14–20.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I. The human microbiome project. *Nature*. 2007; 449 (7164): 804–810.
- Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol. Res.* 2013; 69 (1): 137–143. Doi: 10.1016/j.phrs.2012.11.006. Epub 2012 Nov 28.
- Kau A.L., Ahern P.P., Griffin N.W., Goodman A.L., Gordon J.I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011; 474 (7351): 327–336.
- Goodacre R. Metabolomics of a superorganism. *J. Nutr.* 2007; 137 (Suppl. 1): 259–266.
- Wylie K.M., Truty R.M., Sharpton T.J., Mihindukulasuriya K.A., Zhou Y., Gao H., Sodergren E., Weinstock G.M., Pollard K.S. Novel bacterial taxa in the human microbiome. *PLoS One*. 2012; 7 (6): e35294. doi: 10.1371/journal.pone.0035294. Epub 2012 Jun 13.
- Li K., Bihan M., Yooseph S., Methe B.A. Analyses of the microbial diversity across the human microbiome. *PLoS One*. 2012; 7 (6): e32218. doi: 10.1371/journal.pone.0032218. Epub 2012 Jun 13.
- Ursova N.I. *Vopr. sovr. pediatrii — Current pediatrics*. 2006; 1 (1): 51–56.
- Feng T., Elson C.O. Adaptive immunity in the host-microbiota dialog. *Mucosal Immunol.* 2011; 4: 15–21.
- Loranskaya I.D., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu. *Farmateka — Pharmateca*. 2013; 8: 61–66.
- Shenderov B.A. *Meditsinskaya mikrobnaya ekologiya i funktsional'noe pitanie. T. 1: Mikroflora cheloveka i zhivotnykh i ee funktsii* [Medical Microbial Ecology and Functional Nutrition. Volume 1: Microflora of Human and Animal and its Functions]. Moscow, GRANT». 1998. 288 s.
- Nikitenko V.I., Saprykin V.B., Matveeva O.I., Blinova V.M. *Novye dannye o mekhanizme formirovaniya i reguliruyushchei roli normal'noi mikroflory kishhechnika u detei. Gastroenterologiya Sankt-Peterburga* [Up-to-date Data on Progress Mechanism and Regulative Function of Normal Microflora of Children. St. Petersburg Gastroenterology]. *Mat-ly 6-go Mezhdunarodnogo Slavyano-Baltiiskogo nauchnogo foruma «Sankt-Peterburg-Gastro-2004»*. № 2–3 (Proceedings of 6th International Slavo-Baltic Scientific Forum “St. Petersburg-Gastro-2004”). Moscow, 2004. 101 p.
- Sebra J.J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69 (Suppl.): 1046–1051.
- Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99: 15451–15455.
- Jernberg C., Lofmark S., Edlund C., Jansson J.K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J.* 2007; 1: 56–66.
- Kronman M.P., Zaoutis T.E., Haynes K., Feng R., Coffin S.E. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics*. 2012; 130: 794–803.
- Laubereau B., Filipiak-Pittroff B., von Berg A., Grubl A., Reinhardt D., Wichmann H.E., Koletzko S. GINI Study Group. Caesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis and sensitization during the first year of life. *Arch. Dis. Childhood*. 2004; 89: 993–997.
- Renz-Polster H., David M.R., Buist A.S., Vollmer W.M., O'Connor E.A., Frazier E.A., Wall M.A. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin. Exp. Allergy*. 2005; 35: 1466–1472.

25. Ismail I.H., Oppedisano F., Joseph S.J., Boyle R.J., Licciardi P.V., Robins-Browne R.M., Tang M.L. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2012; 23 (7): 674–681. Doi: 10.1111/j.1399-3038.2012.01328.x.
26. 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; 108 (Suppl. 1): 4578–4585.
27. Faria A.M.C., Weiner H.L. Oral tolerance. *Immunol. Rev.* 2005; 206: 232–259.
28. Rescigno M., Di S.A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J. Clin. Invest.* 2009; 119 (9): 2441–2450.
29. Atarashi K., Nishimura J., Shima T., Umesaki Y., Yamamoto M., Onoue M., Yagita H., Ishii N., Evans R., Honda K., Takeda K. ATP drives lamina propria TH17 cell differentiation. *Nature.* 2008; 455 (7214): 808–812.
30. Mora J.R., Iwata M., Eksteen B., Song S.Y., Junt T., Senman B., Otipoby K.L., Yokota A., Takeuchi H., Ricciardi-Castagnoli P., Rajewsky K., Adams D.H., von Andrian U.H. Generation of gut-homing IgA-secreting B cells by intestinal dendritic cells. *Science.* 2006; 314 (5802): 1157–1160.
31. Sun C.M., Hall J.A., Blank R.B., Bouladoux N., Oukka M., Mora J.R., Belkaid Y. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J. Exp. Medicine.* 2007; 204 (8): 1775–1785.
32. Iliiev I.D., Spadoni I., Mileti E., Matteoli G., Sonzogni A., Sampietro G.M., Foschi D., Caprioli F., Viale G., Rescigno M. Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut.* 2009; 58 (11): 1481–1489.
33. Akdis C.A., Blaser K., Akdis M. Genes of tolerance. *Allergy.* 2004; 59: 897–913.
34. Peng H.J., Su S.N., Tsai J.J., Tsai L.C., Kuo H.L., Kuo S.W. Effect of ingestion of cows milk hydrolysed formulas on whey protein-specific Th2 immune responses in naive and sensitised mice. *Clin. Exp. Allergy.* 2004; 34: 663–670.
35. Karlsson M.R., Rugtveit J., Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD41CD251 regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J. Exp. Med.* 2004; 199: 1679–1688.
36. Sudo N., Sawamura S.A., Tanaka K., Aiba Y., Kubo C., Koga Y. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J. Immunol.* 1997; 159 (4): 1739–1745.
37. Tanaka K., Ishikawa H. Role of intestinal bacterial flora in oral tolerance induction. *Histology & Histopathology.* 2004; 19 (3): 907–914.
38. Oyama N., Sudo N., Sogawa H., Kubo C. Antibiotic use during infancy promotes a shift in the T (H)1/T (H)2 balance toward T(H)2-dominant immunity in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 107 (1): 153–159.
39. Sudo N., Yu X.N., Aiba Y., Oyama N., Sonoda J., Koga Y., Kubo C. An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin. Exp. Allergy.* 2001; 32 (7): 1112–1116.
40. Weng M., Walker W.A. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2013; 4: 203–214.
41. Chen Y., Tnobe J., Marks R., Gonnella P., Kuchroo V.K., Weiner H.L. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature.* 1995; 376: 177–180.
42. Walker W. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Ann. Nutr. Metab.* 2013; 63 (Suppl. 2): 8–15.
43. Dreskin S.C., Ayars A., Jin Y., Atkins D., Leo H.L., Song B. Association of genetic variants of CD14 with peanut allergy and elevated IgE levels in peanut allergic individuals. *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 2011; 116: 170–172.
44. Buckova D., Holla L.I., Znojil V., Vasku A. Polymorphisms of the CD14 gene and atopic phenotypes in Czech patients with IgE-mediated allergy. *J. Hum. Genetics.* 2006; 51 (11): 977–983.
45. Campos E., Shimojo N., Inoue Y., Arima T., Suzuki S., Tomiita M., Matsuura T., Hata A., Suzuki Y., Aoyagi M., Kohno Y. No association of polymorphisms in the 5' region of the CD14 gene and food allergy in a Japanese population. *Allergol. Int.* 2007; 56 (1): 23–27.
46. Galli E., Ciucci A., Cersosimo S., Pagnini C., Avitabile S., Mancino G., Delle Fave G., Corleto V.D. Eczema and food allergy in an Italian pediatric cohort: no association with TLR-2 and TLR-4 polymorphisms. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2010; 23 (2): 671–675.
47. Prescott S.L., Noakes P., Chow B.W., Breckler L., Thornton C.A., Hollams E.M., Ali M., van den Biggelaar A.H., Tulic M.K. Presymptomatic differences in Toll-like receptor function in infants who have allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (2): 391–399.
48. Yu L.C.H., Montagnac G., Yang P.C., Conrad D.H., Benmerah A., Perdue M.H. Intestinal epithelial CD23 mediates enhanced antigen transport in allergy: evidence for novel splice forms. *Am. J. Physiol.* 2003; 285 (1): 223–234.
49. Adel-Patient K., Bernard H., Ah-Leung S., Creminon C., Wal J.M. Peanut- and cow's milk-specific IgE, Th2 cells and local anaphylactic reaction are induced in Balb/c mice orally sensitized with cholera toxin. *Allergy.* 2005; 60 (5): 658–664.
50. Kosecka U., Marshall J.S., Crowe S.E., Bienenstock J., Perdue M.H. Pertussis toxin stimulates hypersensitivity and enhances nerve-mediated antigen uptake in rat intestine. *Am. J. Physiol.* 1994; 267 (5): 745–753.
51. Gagliardi M.C., Sallusto F., Marinaro M., Vendetti S., Riccomi A., De M.T. Effects of the adjuvant cholera toxin on dendritic cells: stimulatory and inhibitory signals that result in the amplification of immune responses. *Int. J. Med. Microbiol.* 2001; 291 (6–7): 571–575.
52. Smit J.J., Bol-Schoenmakers M., Hassing I., Fiechter D., Boon L., Bleumink R., Pieters R.H. The role of intestinal dendritic cells subsets in the establishment of food allergy. *Clin. Exp. Allergy.* 2011; 41 (6): 890–898.
53. Feng B.S., Chen X., He S.H., Zheng P.Y., Foster J., Xing Z., Bienenstock J., Yang P.C. Disruption of T-cell immunoglobulin and mucin domain molecule (TIM)-1/TIM4 interaction as a therapeutic strategy in a dendritic cell-induced peanut allergy model. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (1): 55–61.
54. Meyers J.H., Chakravarti S., Schlesinger D., Illes Z., Waldner H., Umetsu S.E., Kenny J., Zheng X.X., Umetsu D.T., DeKruyff R.H., Strom T.B., Kuchroo V.K. TIM-4 is the ligand for TIM-1, and the TIM-1-TIM-4 interaction regulates T cell proliferation. *Nature Immunol.* 2005; 6 (5): 455–464.
55. Yang P.C., Xing Z., Berin C.M., Soderholm J.D., Feng B.S., Wu L., Yeh C. TIM-4 expressed by mucosal dendritic cells plays a critical role in food antigen-specific Th2 differentiation and intestinal allergy. *Gastroenterology.* 2007; 133 (5): 1522–1533.
56. Kalliomaki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E. 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.
57. Songjinda P., Nakayama J., Tateyama A., Tanaka S., Tsubouchi M., Kiyohara C., Shirakawa T., Sonomoto K. Differences in developing intestinal microbiota between allergic and non-allergic infants: a pilot study in Japan. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2007; 71 (9): 2338–2342.
58. Makarova S.G. *Obosnovanie i otsenka effektivnosti dietoterapii pri pishchevoi allergii u detei v razlichnye vozrastnye periody. Avtoref. dis. ... dokt. med. nauk* [Objectives and Effectiveness Assessment of Nutritional Management in Children of Different Age. Author's abstract]. Moscow, 2008. 60 p.
59. *Pishchevaya allergiya. Ruk-vo dlya vrachei. Pod red. A.A. Baranova, L.S. Namazovoi-Baranovoi, T.E. Borovik, S.G. Makarovoi* [Food Allergy. Guideline. Edited by A.A. Baranov, L.S. Namazova-Baranova, T.E. Borovik, S.G. Makarova]. Moscow, *Pediatr*, 2013. 160 p.
60. Diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. *World Allergy Organization.* 2010.
61. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI committee practical guidelines. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55 (2): 221–229.
62. Bruni F.M., Piacentini G.L., Peroni D.G., Bodini A., Fasoli E., Boner A.L. Cow's milk allergic children can present sensitisation to probiotics. *Acta Paediatr.* 2009; 98 (2): 321–323.
63. Boyle R.J., Bath-Hextall F.J., Leonardi-Bee J., Murrell D.F., Tang M.L. Probiotics for treating eczema. *Cochr. Database Syst. Rev.* 2008; 4: CD006135.
64. Gruber C., van Stuijvenberg M., Mosca F., Moro G., Chirico G., Braegger C.P., Riedler J., Boehm G., Wahn U. MIPS 1 Working Group. Reduced occurrence of early atopic dermatitis because of immunoactive prebiotics among low-atopy-risk infants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 126: 791–797.