

# Олигосахариды грудного молока в детских смесях: вчера, сегодня, завтра

И. В. Гмошинский<sup>1</sup>, ORCID: 0000-0002-3671-6508, gmosh@ion.ru

В. А. Скворцова<sup>2, 3</sup>, ORCID: 0000-0002-6521-0936, vera.skvortsova@mail.ru

Т. Э. Боровик<sup>2, 4</sup>, ORCID: 0000-0002-0603-3394, nutrborovik@nczd.ru

О. А. Боковская<sup>5</sup>, ORCID: 0000-0002-8453-8646, obokovskaya@gmail.com

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки **Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи**; 109240, Россия, Москва, Устьинский проезд, 2/14

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное учреждение **Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации**; 119991, Россия, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1

<sup>3</sup> **Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М. Ф. Владимирского**; 129090, Россия, Москва, пр-т Мира, 61/2м

<sup>4</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования **Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации**; 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

<sup>5</sup> **Акционерное общество «ИНФАПРИМ»**; 123060, Россия, Москва, ул. Маршала Рыбалко, 2, корп. 8

**Резюме.** Олигосахариды грудного молока являются одним из основных его компонентов и содержатся в нем в количестве от 5 до 20 г/л, уступая только лактозе и липидам и конкурируя в этом отношении с содержанием общего белка. Олигосахариды грудного молока представлены большим числом (около 200) олигосахаридных структур, в основе которых лежит структурное звено в составе остатков моносахаридов D-глюкозы, D-галактозы и N-ацетилглюкозамина, которое подвергается в различной степени дополнительной модификации остатками фукозы и сиаловой кислоты. Олигосахариды грудного молока уникальны для женского грудного молока и практически не встречаются в молоке дойных сельскохозяйственных животных, в том числе в коровьем. Первоначальные представления о роли олигосахаридов грудного молока как исключительно «бифидус-фактора» в настоящее время претерпели значительные изменения. Так, многочисленными исследованиями показаны разнообразные полезные эффекты олигосахаридов грудного молока в развитии организма ребенка, что включает стимулирующее действие на формирование нормального микробиома толстой кишки, способность к формированию эффективно функционирующего защитного кишечного барьера, связывание и нейтрализацию большого числа патогенных микроорганизмов и вирусов, иммунорегуляторное действие. Отдельные компоненты олигосахаридов грудного молока, произведенные с использованием современных биоинженерных технологий, в частности 2'-фукозиллактоза (2'FL), в последние годы приобретают большую популярность для обогащения детских смесей, заменяя традиционно используемые виды пребиотиков (галактоолигосахариды, фруктоолигосахариды, инулин). В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях получили подтверждение целесообразность и эффективность включения олигосахаридов грудного молока в состав адаптированных молочных смесей. Показана хорошая переносимость таких смесей и их способность обеспечивать показатели физического развития детей в пределах нормальных значений. В отдельных работах установлено положительное влияние искусственно полученных олигосахаридов грудного молока на формирование и состав кишечной микробиоты у детей первого года жизни. Показана клиническая эффективность использования детских молочных смесей, обогащенных олигосахаридами грудного молока, в отношении заболеваемости острыми респираторными инфекциями. Таким образом, олигосахариды грудного молока, произведенные современными биотехнологическими методами, являются безопасным и эффективным функциональным компонентом молочных смесей для здоровых детей грудного возраста. Исследования с целью более широкого использования данного компонента в составе продуктов питания детей, в том числе лечебных, продолжаются в настоящее время.

**Ключевые слова:** олигосахариды грудного молока, 2'-фукозиллактоза, детские смеси, пребиотики, инфекции, иммунная система, кишечный барьер.

**Для цитирования:** Гмошинский И. В., Скворцова В. А., Боровик Т. Э., Боковская О. А. Олигосахариды грудного молока в детских смесях: вчера, сегодня, завтра // *Лечащий Врач*. 2022; 2 (25): 40-48. DOI: 10.51793/OS.2022.25.2.007

# Human milk oligosaccharides in infant formula: yesterday, today, tomorrow

Ivan V. Gmshinsky<sup>1</sup>, ORCID: 0000-0002-3671-6508, gmsh@ion.ru

Vera A. Skvortsova<sup>2, 3</sup>, ORCID: 0000-0002-6521-0936, vera.skvortsova@mail.ru

Tatiana E. Borovik<sup>2, 4</sup>, ORCID: 0000-0002-0603-3394, nutrborovik@nczd.ru

Olga A. Bokovskaya<sup>5</sup>, ORCID: 0000-0002-8453-8646, obokovskaya@gmail.com

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety; 2/14 Ustinsky passage, Moscow, 109240, Russia

<sup>2</sup> Federal State Autonomous Institution National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2 p. 1 Lomonosovsky Prospekt, Moscow, 119991, Russia

<sup>3</sup> Moscow Regional Research Clinical Institute named after M. F. Vladimirsky; 61/2m Mira Ave., Moscow, 129090, Russia

<sup>4</sup> Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 8 p. 2 Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

<sup>5</sup> INFAPRIM Joint Stock Company; 2 b. 8 Marshal Rybalko str., Moscow, 123060, Russia

**Abstract.** Breast milk oligosaccharides represent a main component of human milk and are contained in it in an amount of 5 to 20 g/l, which is below only lactose and lipids and is competing with the content of total protein in this respect. Breast milk oligosaccharides are composed by a large number (about 200) of oligosaccharide structures, which are based on a structural link based on D-glucose, D-galactose, and N-acetylglucosamine monosaccharide residues, which undergoes additional modification to varying degree by fucose and sialic acid. Breast milk oligosaccharides are unique to human breast milk and practically do not occur in the milk of dairy farm animals, such as cow's milk. Initial ideas about the role of breast milk oligosaccharides as an exclusively «bifidus factor» have now undergone significant changes. So, numerous studies have shown a variety of beneficial effects of breast milk oligosaccharides in the development of the child's body, which includes a stimulating effect on the formation of a normal microbiome of the colon, the ability to form an effectively functioning protective intestinal barrier, binding and neutralizing a large number of pathogenic microorganisms and viruses, immunoregulatory action. Individual components of breast milk oligosaccharides, produced using modern bioengineering technologies, in particular, 2'-fucosyllactose (2'FL), have become very popular recently for the enrichment of infant formulas, replacing traditionally used types of prebiotics, such as galactooligosaccharides, fructooligosaccharides and inulin. In numerous experimental and clinical studies, the expediency and effectiveness of including breast milk oligosaccharides in the composition of adapted milk formulas have been confirmed. Good tolerability of such mixtures and their ability to provide indicators of the physical development of children within the normal range have been shown. In some works, a positive effect of artificially obtained breast milk oligosaccharides on the formation and composition of the intestinal microbiota in children of the first year of life has been established. The clinical effectiveness of the use of infant formula enriched with breast milk oligosaccharides in relation to the incidence of acute respiratory infections has been shown. Thus, breast milk oligosaccharides produced by the methods of modern biotechnology are a safe and effective functional component of milk formulas for healthy infants. Research to expand the use of this components in the composition of children's nutrition products, including medicinal products, is ongoing.

**Keywords:** human milk oligosaccharides, 2'-fucosyllactose, infant formula, prebiotics, infections, immune system, intestinal barrier.

**For citation:** Gmshinsky I. V., Skvortsova V. A., Borovik T. E., Bokovskaya O. A. Human milk oligosaccharides in infant formula: yesterday, today, tomorrow // *Lechaschi Vrach.* 2022; 2 (25): 40-48. DOI: 10.51793/OS.2022.25.2.007

За последние 120 лет с момента первых открытий Т. Escherich, Е. Моро и Н. Tissier в области кишечного микробиома младенцев и влияния пребиотического компонента грудного молока (М. Polonowski, А. Lespagnol) знания в этой области под влиянием фундаментальных клинических исследований значительно трансформировались [1].

Доказанная на сегодняшний день способность олигосахаридов грудного молока (ОГМ) формировать нормальный кишечный микробиом младенца, оказывать благотворное действие на созревание защитного кишечного барьера, препятствовать инфицированию патогенами и регулировать иммунные функции позволяет утверждать, что ОГМ в действительности являются эссенциальным фактором питания детей первого года жизни. Единственным источником ОГМ во всем природном разнообразии их структур, обеспечивающих перечисленные защитные функции, является только грудное молоко. В случае же, когда грудное вскармливание по тем или иным причинам недоступно, современные смеси для искусственного вскармливания должны содержать ингредиенты, максимально возможным способом имитирующие функции ОГМ в организме ребенка.

## Состав и структура олигосахаридов грудного молока

ОГМ занимают 3-4 место по распространенности в составе материнского молока, уступая только лактозе и липидам

и конкурируя в этом отношении с содержанием общего белка [2]. Содержание ОГМ в грудном молоке непостоянно и снижается в ходе лактации с приблизительно 20-25 г/л в молозиве до 12-14 г/л в переходном (третьи сутки лактации) и 5-8 г/л в зрелом грудном молоке [3-4]. Помимо этого, на количество и состав ОГМ влияют рацион питания матери и наличие сопутствующих заболеваний, включая аллергию [5], регион ее проживания [6] и срок гестации [7].

Расшифровка структуры ОГМ стала возможной только в 2010-е годы с развитием таких аналитических методов, как жидкостная хроматография высокого давления с онлайн-флуоресцентным детектированием (HPLC-FL) и тандемная масс-спектрометрия [8]. В настоящее время показано, что ОГМ представляют собой гетерогенное семейство из более чем 200 различных олигосахаридов, образованных пятью основными углеводными мономерами: D-глюкозой (Glc), D-галактозой (Gal), N-ацетилглюкозамином (GlcNAc), фукозой (Fuc) и сиаловой (ацетилнейраминовой) кислотой (NeuAc). При этом только 20-25 индивидуальных ОГМ представлены в молоке в значительных количествах, составляя в сумме > 95% от их общей массы [9].

ОГМ уникальны для женского грудного молока и практически не встречаются в молоке других видов [10]. Коровье молоко содержит только следовые количества олигосахаридов, более сложных, чем лактоза, причем они в основном сиалированы и

практически на содержат фукозы [11]. Причиной таких различий являются эволюционно обусловленные особенности пищеварения ребенка и детенышей жвачных. Если у первого практически все ОГМ благополучно избегают расщепления в ротовой полости, желудке и тонкой кишке и достигают толстой кишки, где подвергаются ферментации симбиотической микрофлорой [12], в первую очередь представителями рода *Bifidobacterium* [10], то у вторых вся пища поступает вначале в верхний отдел желудка — рубец, обладающий собственным специфическим микробным сообществом, не имеющим практически ничего общего с микробиомом толстой кишки человека. Поэтому структуру ОГМ следует считать в наибольшей степени эволюционно адаптированной к метаболизму нормальным микробным сообществом толстой кишки ребенка первого года жизни.

### Основные функции олигосахаридов грудного молока

#### Влияние на развитие и состав кишечного микробиома

Толстая кишка человека заселена сообществом микроорганизмов (микробиотой), в таксономическом отношении представленной в основном прокариотами (археями и бактериями), но также включающей простейших, вирусы и грибы [13]. Общая совокупность всех видов микроорганизмов, населяющих орган, представляет собой микробиом. Активная колонизация кишки этим сложным сообществом происходит сразу после рождения [14], причем на темп и направленность этого процесса влияет комплекс факторов, в первую очередь характер родов. У младенцев, появившихся на свет в физиологических родах, происходит колонизация бактериями влажной слизистой тракта, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и кожи матери, что приводит к преобладанию в микробиоме представителей родов *Bifidobacterium*, *Lactobacilli* и *Bacteroides*, относящихся к типам *Actinobacteria* и *Bacteroidetes* [15]. У младенцев, рожденных посредством кесарева сечения, первичное заселение происходит бактериями из кожи и полости рта, а также видами, поступающими из окружающей среды, среди которых преобладают бактерии из типа *Firmicutes*, входящие в роды *Clostridiaceae*, *Veillonella*, *Klebsiella* и др., а численность и разнообразие актинобактерий и бактериоидов снижена [16].

Различия в составе микробиома толстой кишки постепенно сглаживаются в течение первых месяцев жизни при условии адекватного питания, в первую очередь грудного вскармливания [4]. Младенцы, вскармливаемые грудью, как правило, имеют меньшую частоту иммунологических нарушений и меньшую подверженность кишечным инфекциям в связи с высоким содержанием полезных бактерий *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. [17].

Симбиотические микроорганизмы кишки осуществляют ассимиляцию ОГМ, а также искусственных пребиотических олигосахаридов, применяемых в детских смесях, с участием бактериальных ферментов, таких как гликозидгидролазы ( $\alpha$ -сиалидаза,  $\alpha$ -фукозидаза,  $\beta$ -галактозидаза,  $\beta$ -N-ацетилгексозаминидаза), гликозилтрансферазы, полисахаридлиазы и углеводные эстеразы [18], с образованием моносахаридов, включаемых далее в процессы уксуснокислого, пропионовокислого и маслянокислого брожения с выработкой короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) — ацетата, пропионата и бутирата [19]. Последние выступают в роли источника энергии как для самих членов микробного сообщества, так и для эпителиальных клеток кишки, стимулируя их рост, регенерацию и повышая их барьерную функцию [20].

Способность использовать ОГМ не одинакова у разных видов бактерий. Так, *Bifidobacterium longum supsp. infantis*

хорошо росли на объединенных ОГМ, выделенных из грудного молока, а также в присутствии таких индивидуальных форм ОГМ, как 2'-фукозиллактоза (2'FL), 3-фукозиллактоза (3FL), лакто-N-неотетраоза (LNnT), лакто-N-тетраоза (LNT), лакто-N-фукопентаоза (LNFP I-III) и некоторых других во время инкубации, тогда как *Bifidobacterium longum supsp. longum* и *Bifidobacterium breve* были способны усваивать только LNT [3]. *Bifidobacteria longum supsp. infantis* ATCC 15697 и *Bifidobacterium infantis* M-63 могли ферментировать 3'-сиалиллактозу (3'SL), 6'-сиалиллактозу (6'SL), 2'FL и 3FL, тогда как штаммы *B. infantis* и *Bifidobacterium breve* ATCC 15700, а также *Lactobacillus acidophilus* NCFM могли ферментировать только LNnT [17]. Различные SL в составе ОГМ стимулировали рост *B. prevotella*, но не лактобацилл [18].

В число компонентов нормального микробиома кишечника ребенка, способных усваивать ОГМ, входят также представители рода *Bacteroides* spp. [21].

Обмен генетической информацией между видами, использующими ОГМ, и другими видами может способствовать увеличению разнообразия состава микробиоты. Кроме того, метаболиты, образующиеся при утилизации ОГМ бифидобактериями, могут способствовать росту других видов, неспособных деградировать углеродный скелет ОГМ. Так, молочная кислота, образующаяся при ферментации ОГМ бифидобактериями, может быть затем использована такими вторичными видами, как *Eubacterium halii*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Clostridium butyricum*, в результате чего продуцируется бутират [22]. Среда, кондиционированная *B. longum* LH206, выращиваемыми в присутствии 2'FL, могла стимулировать рост *B. longum* LH659, продуцирующей ацетат. В том же исследовании *B. pseudocatenulatum* LH13 усваивали 2'FL с образованием ацетата, этанола, формиата и 1,2-пропандиола, которые в дальнейшем могли быть использованы *B. longum* LH12, неспособными к деградации указанного трисахаридов [19]. Эти и многочисленные другие данные показывают, что нормальное микробное сообщество толстой кишки младенца, получающего ОГМ при грудном вскармливании, представляет собой внутренне связанную экосистему, одни члены которой отвечают за деградацию цепей ОГМ до мономеров, а другие уже усваивают их с образованием веществ, необходимых организму хозяина.

### Роль в формировании защитного барьера кишки

Защитный барьер тонкой и толстой кишки представляет собой функционально связанную систему физиологических факторов, препятствующих проникновению из полости кишки во внутреннюю среду организма пищевых антигенов, токсичных макромолекул (включая токсины, продуцируемые патогенной микрофлорой) и собственно патогенных микроорганизмов, и таким образом обеспечивающий гомеостаз внутренней среды организма [3]. Он включает такие компоненты, как пищеварительно-транспортный конвейер (моторика ЖКТ, активность пищеварительных ферментов), резидентная микробиота, кишечные слизистые наложения, гликокаликс (гликопротеиновая оболочка микроворсинок щеточной каймы энтероцитов), собственно эпителий ворсинок, иммунные клетки ворсинок всасывающего эпителия и пейеровых бляшек, клетки Панета либеркюновых крипт, экспрессирующие дефензины, иммунные клетки собственной пластинки (лимфоциты, дендритные клетки), эндотелий сосудов брыжейки (рис.).

ОГМ могут оказывать прямое действие на различные компоненты кишечного барьера. Так, 3FL и LNT повышали экспрессию гена *MUC2*, ответственного за синтез слизи кишеч-



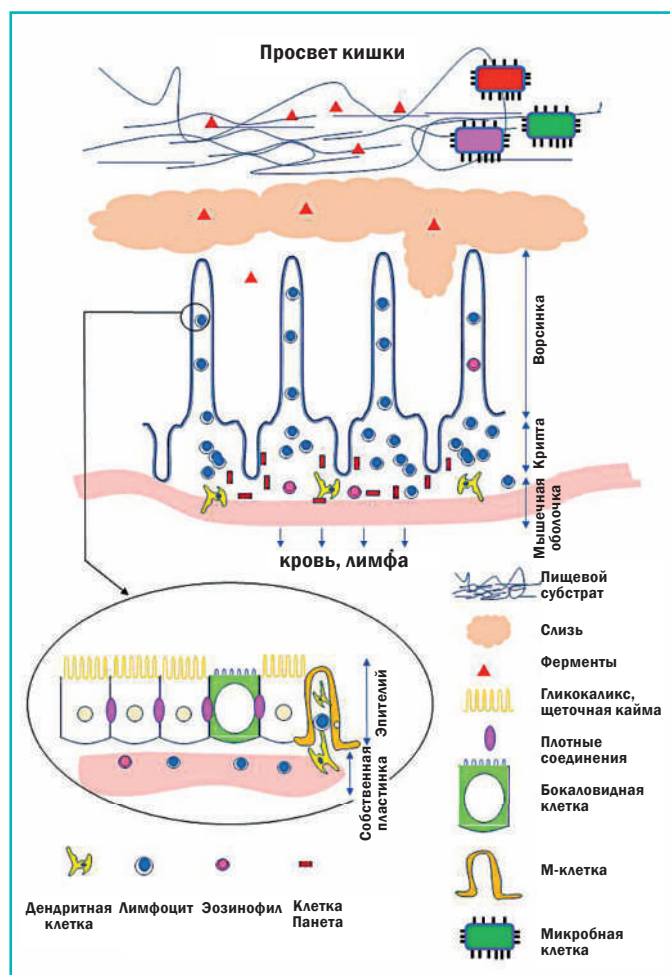


Рис. Упрощенная схема защитного барьера кишки (рисунок составлен авторами с использованием данных из публикаций [2-4]) / Simplified scheme on intestinal protective barrier (composed by authors using data from references [2-4])

ными железами [23]. ОГМ влияли на экспрессию различных молекул гликопротеинов, формирующих слой гликокаликса и препятствующих проникновению определенных патогенов в энтероциты [24]. Кроме того, ОГМ могут стимулировать созревание эпителиальных клеток. В частности, 2<sup>FL</sup>, 3<sup>FL</sup> и 6<sup>SL</sup> по отдельности или в комбинации снижали пролиферацию и повышали дифференцировку как кишечных эпителиальных клеток HT-29, так и клеток Caco-2, что интерпретируется как улучшение созревания эпителия [25].

Воздействие ОГМ на клетки HT29 приводило к модуляции экспрессии цитокинов, хемокинов и рецепторов клеточной поверхности [26]. В другом исследовании клетки кишечного эпителия, обработанные бактериальным эндотоксином, в присутствии ОГМ продуцировали меньшие уровни провоспалительных цитокинов, тогда как синтез цитокинов, участвующих в восстановлении тканей и гомеостазе, увеличивался [27]. После воздействия ОГМ наблюдается снижение проницаемости для макромолекул слоев клеток Caco-2 и HT29, мониторируемой по транслокации флуоресцентно меченого декстрана и величине трансэпителиального электрического сопротивления [28]. Аналогичный эффект снижения макромолекулярной проницаемости под действием ОГМ получен на модели некротизирующего энтероколита у детенышей мышей в исследовании [29].

### Ингибирование инфицирования патогенами

В качестве одной из важных функций ОГМ рассматривается защита младенца, получающего грудное вскармливание, от заболеваний, вызываемых бактериальными и вирусными патогенами, в первую очередь от кишечных инфекций [2-4]. Выше был рассмотрен один из механизмов такой защиты, состоящий в преимущественном развитии в присутствии ОГМ симбиотических бифидобактерий и лактобацилл и оказывающий мощное подавляющее действие на развитие патогенов как за счет снижения pH кишечного содержимого, так и путем синтеза специфических антимикробных метаболитов (бактерицинов) [30].

Альтернативный защитный механизм, проявляемый ОГМ, состоит в наличии у них антиадгезивных свойств в отношении патогенов [2]. ОГМ способны связываться с локусами (белками адгезии) на поверхности патогенов, предотвращая тем самым их прикрепление к эпителиальным клеткам и снижая риск инвазии. Этот механизм можно считать доказанным для инфекций *E. coli* [31] и *Campylobacter jejuni* [3]. Наличие у ОГМ свойств «рецепторов-ловушек» определяется их структурным сходством с углеводными цепями гликанов гликокаликса щеточной каймы энтероцитов, которые используются многими патогенами в качестве «входных ворот» для инвазии [4].

Различные фрагменты ОГМ, по-видимому, способны в наибольшей степени ингибировать прикрепление определенных видов безвредных микроорганизмов. В частности, фукозилированные олигосахариды эффективно ингибируют адгезию *Campylobacter jejuni*, энтеропатогенной *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes* [31, 32] к эпителию кишки.

Влияние различных компонентов ОГМ на процессы вирусного инфицирования изучено сравнительно мало. Поскольку дети, находящиеся на грудном вскармливании, напрямую защищены от ротавирусов человека, то есть основание полагать, что наличие в составе ОГМ структур, подобных 2<sup>FL</sup>, может быть фактором, предотвращающим ротавирусную инфекцию [33]. С другой стороны, данные о влиянии таких компонентов ОГМ, как LNT и LNT, на инфицирование младенцев ротавирусом и эффективность пероральной антиротавирусной вакцины были неоднозначными [34].

### Иммуномодулирующее действие ОГМ

Как известно, младенцы, вскармливаемые грудью, имеют при прочих равных условиях меньшую частоту иммунологических нарушений, включая пищевую аллергию и атопический дерматит, по сравнению с рожденными путем кесарева сечения и/или получавшими детскую смесь [17]. Известно также протективное действие грудного молока в отношении некротизирующего энтероколита новорожденных (NEC), имеющего одним из возможных, по современным представлениям, иммунопатологический механизм развития [35].

Как и в случае рассмотренных выше противоинфекционных эффектов, иммуномодулирующее действие ОГМ может опосредоваться развитием симбиотической бифидофлоры, антигены которой влияют на клетки ассоциированной с кишкой лимфоидной ткани (GALT) [17]. Кроме того, метаболиты нормальной микробиоты толстой кишки, включая ацетат, пропионат и бутират, сами могут выступать в качестве иммунорегуляторных молекул [36]. ОГМ обладают, по-видимому, и способностью непосредственно влиять на функцию иммунокомпетентных клеток местно – на уровне взаимодействия ОГМ с компонентами GALT в тонкой и толстой кишке (системное действие на сегодняшний день не считается полностью подтвержденным) [3].

В настоящее время получены данные о том, что ОГМ проявляют свои иммунорегулирующие эффекты через взаимодействие с Toll-подобными рецепторами (TLR) клеток иммунной системы. Активация и ингибирование отдельных TLR сильно зависят от действующего фрагмента ОГМ, так, например, 3FL активировала TLR2 и ингибировала TLR5, TLR7, TLR8, в то время как LNT2 активировала все TLR, чем создавала возможность последующего увеличения секреции ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  макрофагами [37].

При оценке этих явлений следует иметь в виду, что многие состояния раннего возраста могут быть связаны с механизмами, опосредуемыми TLR. Например, активация TLR4 играет роль в патогенезе NEC за счет стимуляции процессов некроптоза [35]. Добавка ОГМ увеличивает дифференцировку эпителиальных клеток и ускоряет обновление клеток крипт Либержюна, что обеспечивает защиту эпителиальных клеток кишки от повреждения при NEC. ОГМ также активируют рецепторы эпидермального фактора роста, снижают экспрессию TLR4 и ингибируют исходящую от него передачу сигналов через NF- $\kappa$ B, что приводит к снижению экспрессии воспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 [38]. В подтверждение этого было показано, что добавление 2'FL и 6'SL, но не лактозы, к детской смеси предотвращает NEC на моделях мышей и поросят и ослабляет NEC-ассоциированное воспаление в подвздошной кишке посредством ингибирования TLR4 [39].

#### **Заменители олигосахаридов женского молока в детских смесях**

Обогащение детских смесей ОГМ, идентичными природным, является задачей, которая в настоящее время не решена, и перспективы ее решения в обозримом будущем отсутствуют. Синтез разнообразных олигосахаридных последовательностей ОГМ в лактоцитах матери осуществляется под действием комплекса высокоспецифичных гликозилтрансфераз, использующих в качестве субстратов активированные уридиндифосфат-производные моносахаридов [40]. Получение таких субстратов и реализация этих ферментативных процессов в промышленных масштабах сейчас и в ближайшей перспективе технологически не реальны. Поэтому на практике используются следующие два основных подхода к имитированию функции ОГМ в составе адаптированных смесей.

#### **Способы получения пребиотиков, применяемых в детских смесях**

Первый из них базируется на использовании веществ, получаемых из природных источников – пребиотиков, которые не обязательно обладают структурным сходством с ОГМ, но имеют аналогичные им функциональные характеристики [41]. Наиболее часто используемыми искусственными пребиотиками в составе детских смесей являются галактоолигосахариды (GOS), фруктоолигосахариды (FOS) и их комбинации, причем если вещества первой группы демонстрируют определенную структурную гомологию с олигосахаридным «скелетом» ОГМ, то вторые не имеют с ним по своему строению ничего общего [3, 10]. Наряду с этими двумя главными видами пребиотиков, для включения в состав детских смесей в настоящее время предлагается комплекс других функциональных добавок, структурно не родственных ОГМ (производные пектинов, полидекстроза, ксилоолигосахариды, гликозилированный хитозан), и микробные экзополисахариды, однако медико-биологическое обоснование использования этих новых пребиотиков в детском питании в настоящее время отсутствует.

Второй подход сопряжен с использованием в качестве функциональной пребиотической добавки отдельных структурных звеньев ОГМ, синтезируемых с помощью методов современной биотехнологии с использованием специально выделенных микроорганизмов, играющих роль своеобразных «биохимических фабрик» и принадлежащих к определенным видам низших грибов (*Saccharomyces cerevisiae*) и бактерий (*E. coli*) [42, 43]. В настоящее время разработаны, внедрены в промышленном масштабе и получили признание как компонент детских смесей несколько видов ОГМ, в первую очередь биосинтетическая 2'FL-2'-фукозиллактоза [10].

#### **Уровни содержания пребиотиков, используемых в детских смесях**

Поскольку новые пребиотики имитируют только отдельные аспекты структуры и/или функции ОГМ, их содержание в детских смесях не обязательно соответствует уровням ОГМ в женском молоке. Так, введение 2'FL в состав детских смесей обычно осуществляется в количестве до 1 г/л, LnNT – до 0,5 г/л. Типичное количество добавляемых короткоцепочечных GOS (scGOS) в сочетании с длинноцепочечными FOS (lcFOS) составляет до 8 г/л при их соотношении 9:1 по массе [41].

#### **Свидетельства эффективности в эксперименте**

В настоящее время получено большое количество данных в системах *in vitro* (на моделях клеточных культур) и в экспериментах на животных, свидетельствующих о высоком потенциале ряда искусственных пребиотиков в качестве заменителей ОГМ в составе детских смесей. GOS, FOS и их композиция, используемая в детских смесях, являются хорошими субстратами для развития бифидобактерий и лактобацилл, выделенных из фекалий младенцев. Рост этих микробных сообществ сопровождается образованием КЦЖК, характерных для ферментации ОГМ. Подобно природным ОГМ, GOS, FOS и биосинтетическая 2'FL могут действовать как рецепторы-ловушки, блокирующие адгезию патогенных бактерий и некоторых вирусов (норовирусы, ротавирусы) к клеткам. Также было показано, что эти олигосахариды способны стимулировать барьерную функцию кишки, что проявляется в экспрессии белков межклеточных плотных контактов, муцинов и снижении трансэпителиальной проницаемости. Для GOS, олигомеров инулина и биосинтетической 2'FL были показаны эффекты взаимодействия с Toll-подобными рецепторами, включая TLR-5 и TLR-7, результатом чего явился сдвиг в сторону пролиферации Treg-клеток, увеличения продукции противовоспалительных цитокинов, включая ИЛ-10, с формированием толерогенной среды [10].

#### **Безопасность для здоровья**

Многочисленные исследования *in vitro* и *in vivo* искусственных пребиотиков подтверждают отсутствие у них вредных побочных эффектов, что свидетельствует об их безопасности [44]. В 2006 г. Европейская комиссия (ЕС) [45], а в 2014 г. – Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) [46] подтвердили возможность добавления scGOS/lcFOS в детские смеси в количестве не более 8 г/л в соотношении 9:1. Безопасность 2'FL, 3FL и 3'SL, произведенных биотехнологическими методами, подтверждена в доклинических и клинических исследованиях, что получило отражение в официальных документах EFSA [47-49].

Признание международными организациями безопасности новых пребиотиков, вводимых в состав детских смесей, не тождественно признанию их эффективности. По состоянию на 2021 год Комиссия Продовольственного кодекса

(Codex Alimentarius) Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО) и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) осуществляет программу разработки нормативных документов (кодексных стандартов), регламентирующих использование искусственных пребиотиков в детских смесях [50].

### Клинические исследования эффективности заменителей олигосахаридов женского молока

Одно из первых проспективных исследований пребиотиков в составе заменителей женского молока с участием детей было проведено в 28 центрах США в 2013–2014 гг. В него были включены 338 здоровых доношенных детей в возрасте 5 дней, наблюдение проводилось до достижения ими 119-дневного возраста.

В питании детей были использованы 3 смеси, идентичные по своему составу, за исключением содержания олигосахаридов. Их общее количество было одинаковым – 2,4 г/л во всех продуктах. В первой группе контрольная смесь содержала 2,4 г/л галактоолигосахаридов (GOS) и не обогащалась ОГМ. В остальные исследуемые смеси были включены 0,2 г/л 2'FL наряду с 2,2 г/л GOS (вторая группа) либо 1,0 г/л 2'FL и 1,4 г/л GOS (третья группа). Четвертую группу составили дети на грудном вскармливании.

На протяжении периода наблюдения значимых различий в динамике антропометрических показателей (масса и длина тела, окружность головы) между группами не выявлено. Частота стула была достоверно выше, а его консистенция мягче у находившихся на грудном вскармливании по сравнению с детьми всех трех групп, получавших молочные смеси. Анализ аллергических реакций показал, что экзема чаще встречалась у детей, получавших небогатенную смесь, чем во 2-й и 3-й группах, однако достоверных различий не было получено.

Средние концентрации 2'FL в плазме значительно отличались между группами и отражали количество данного компонента в потребляемом продукте. Так, ее максимальный уровень был получен у находившихся на грудном вскармливании, последовательное снижение концентрации установлено у детей 3-й > 2-й > 1-й групп. Экскреция 2'FL с мочой была максимальной на фоне грудного вскармливания, более низкой у детей на искусственном вскармливании, снижаясь от 3-й ко 2-й и далее к 1-й группе. Таким образом, было установлено, что 2'FL из смесей всасывается и выводится с такой же эффективностью, как и 2'FL грудного молока. Исследователи заключили, что смеси с 2'FL безопасны и хорошо переносятся детьми [51].

Еще одно наблюдение подтвердило хорошую переносимость смеси, содержащей 2 г/л FOS и 0,2 г/л 2'FL. Обогащенную и небогатенную олигосахаридами смеси назначали здоровым новорожденным в первую неделю жизни и наблюдали за ними в период до 35 суток. Объем потребляемой смеси между группами не отличался, дети охотно ели новый обогащенный продукт. Сравнение между данными группами и детьми, получавшими материнское молоко, показало, что стул был чаще на фоне грудного вскармливания, в то время как различий по частоте срыгиваний и характеру стула не отмечено [52].

Следующий этап первого исследования состоял в изучении уровней провоспалительных цитокинов в сыворотке крови детей, достигших 1,5 мес. Именно в этом возрасте содержание иммунных клеток достигает максимальных значений после рождения. Дети, получавшие материнское молоко и смеси, обогащенные 2'-FL (2-я и 3-я группы), имели на 29–83% меньшие концентрации ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  ( $p \leq 0,05$ ), чем дети контрольной группы, что свидетельствует о противовоспалительном эффекте ОГМ. В дальнейшем был

проведен ретроспективный анализ заболеваемости детей, получавших небогатенную смесь (контрольная группа) и продукт, содержащий 0,2 г 2'FL/л. При использовании обогащенной смеси отмечено меньшее число случаев респираторных инфекций – 4%, в отличие от контрольной группы, где этот показатель составил 12% ( $p = 0,0383$ ). Таким образом, был клинически подтвержден противовоспалительный эффект ОГМ [53].

В проспективном многоцентровом исследовании (США) оценивалась переносимость и клиническая эффективность смеси на основе частично гидролизованного белка с пониженным содержанием лактозы, обогащенной олигосахаридами (0,2 г 2'FL и 1,8 г FOS в 1 л). Продукт назначался детям, которые по оценке родителей были «очень беспокойными» или «чрезвычайно беспокойными» в возрасте  $25,7 \pm 1,4$  дня. У 63,8% детей наблюдалось уменьшение беспокойства через 1 сутки. Его выраженность продолжала снижаться на протяжении всего периода наблюдения (1 мес). Статистически значимая положительная динамика была выявлена в отношении повышенного газообразования, количества срыгиваний и времени беспокойства в течение суток ( $p < 0,0001$ ). При этом динамика показателей массы и роста находилась в пределах нормы [54].

В 2017 г. опубликованы результаты мультицентрового рандомизированного исследования эффективности смеси с включением двух компонентов ОГМ. Здоровым детям первых 2 недель жизни была назначена детская молочная смесь (группа контроля,  $n = 87$ ) или та же смесь с добавлением 1,0 г/л 2'FL и 0,5 г/л лакто-N-неотетраозы (LNnT) (группа вмешательства,  $n = 88$ ). Наблюдение продолжалось до достижения детьми 1 года. Прибавка массы тела не отличалась между группами, отмечена сходная частота пищеварительных дисфункций, исключение составили более мягкий стул ( $p = 0,021$ ) и меньшее количество ночных пробуждений ( $p = 0,036$ ) в группе вмешательства через 2 месяца от начала наблюдений. Важно отметить, что дети, получавшие обогащенную ОГМ смесь, реже болели бронхитом через 4 месяца (2,3% против 12,6%), 6 месяцев (6,8% против 21,8%) и 12 месяцев (10,2% против 27,6%). Также в группе вмешательства использование жаропонижающих препаратов было более редким в течение 4 месяцев (15,9% против 29,9%) и антибиотиков в течение 6 месяцев (34,1% против 49,4%) и 12 месяцев (42,0% против 60,9%) [55–56].

Дальнейшие рандомизированные контролируемые исследования подтвердили, что детские молочные смеси, обогащенные 2'FL и LNnT, безопасны, хорошо переносятся и обеспечивают нормальные показатели массы и роста. Так, в Испании 159 детей были рандомизированы на 3 группы: на искусственном, смешанном и грудном вскармливании. Средние антропометрические индексы z-scores (ВОЗ) на 8-й неделе жизни детей были практически одинаковыми во всех группах и находились в пределах  $\pm 0,5$  медианы. Сходной во всех группах была частота встречаемости функциональных расстройств в начале исследования, а также на 4-й или 8-й неделе [57].

Влияние смеси, обогащенной НМО, на состав кишечной микробиоты показано в исследовании, проведенном Bernard Berger и соавт. Здоровым доношенным детям контрольной группы была назначена молочная смесь без олигосахаридов. В основной группе использовали продукт, содержащий 1,0 г/л 2'FL и 0,5 г/л LNnT. По достижении 6-месячного возраста дети обеих групп были переведены на одну и ту же последующую смесь без олигосахаридов. Группа сравнения находилась на грудном вскармливании. Образцы стула были собраны у детей в возрасте 3 и 6 месяцев и проанализированы методом мультиплексного высокопроизводительного секвенирования. При этом помимо питания учитывался способ родоразрешения.



Добавление ОГМ (группа контроля) через 3 месяца привело к изменению кишечной микробиоты преимущественно у рожденных с помощью кесарева сечения и приблизило ее к профилю, выявленному у появившихся на свет естественным путем. Установлено более высокое количество *Bifidobacterium* на фоне грудного вскармливания и использования обогащенной смеси в основной группе. Применение обогащенной смеси привело также к снижению количества *Escherichia* и неклассифицированных *Peptostreptococcaceae*, к которым принадлежит *Clostridium difficile*, повышенный уровень которых связан с развитием аллергических заболеваний. В группе контроля выявлено более высокое содержание *Escherichia* и *Peptostreptococcaceae*. Изучение кишечной микробиоты через 12 месяцев показало явное увеличение филогенетического разнообразия во всех группах, но значимые различия оставались только между контрольной группой и группой сравнения, находившейся на грудном вскармливании. Через 6 месяцев после прекращения использования ОГМ их влияние на состав микробиоты не выявлено. Анализ полученных результатов показал, что при высоком содержании *Bifidobacterium* дети в возрасте 3 месяцев реже нуждались в назначении антибиотиков на протяжении первого года жизни, чем дети с низким содержанием *Bifidobacterium* и более высоким уровнем *Enterobacteriaceae* ( $p = 0,033$ ) [58].

Разнообразие структур ОГМ послужило стимулом к разработке и включению в состав детских молочных смесей комплекса из пяти компонентов ОГМ, являющихся представителями основных их групп (нейтральные, нейтрально-фукозилированные и сиалированные) в количестве 5,75 г/л, включая 52% 2'FL, 13% 3FL, 26% LNT, 4% 3'SL и 5% 6'SL. Проведено мультицентровое, рандомизированное, контролируемое клиническое исследование с параллельными группами, в котором оценивались безопасность, переносимость и влияние на рост здоровых детей комплекса 5НМО-Mix. Дети (341 ребенок) были разделены на группы в зависимости от использования обогащенной олигосахаридами или необогащенной смеси, в группу сравнения вошли находящиеся на грудном вскармливании. Наблюдение в течение 4 месяцев показало отсутствие различий в динамике антропометрических показателей между детьми, получавшими различные смеси. Какие-либо нежелательные явления не были зафиксированы ни в одной из групп, получавших продукты с ОГМ. Был сделан вывод о безопасности и хорошей переносимости детской молочной смеси, содержащей смесь 5 разных ОГМ, при вскармливании здоровых доношенных детей первых месяцев жизни [59].

### Заключение

Экспериментальные и клинические исследования доказали целесообразность и эффективность включения ОГМ в состав адаптированных молочных смесей. Показана их хорошая переносимость детьми, получены показатели физического развития в пределах нормальных значений. Установлено положительное влияние данного компонента на формирование и состав кишечной микробиоты у детей первого года жизни, наиболее значимое после рождения ребенка путем кесарева сечения, когда количество микроорганизмов и их многообразие нарушены. Показана роль ОГМ в формировании и функционировании кишечного барьера, а также иммунной системы. В комплексе это может оказать значимое воздействие на функционирование оси «мозг — кишечник», в работе которой помимо нервной принимают активное участие иммунная и нейроэндокринная системы кишечника, а также кишечная микробиота.

Убедительно доказана клиническая эффективность использования детских молочных смесей, обогащенных

ОГМ, в отношении заболеваемости острыми респираторными инфекциями.

Выявленное направленное влияние данного компонента на состав микробиоты, становление кишечного барьера и иммунных функций, а также полученные отдельные результаты о снижении риска развития аллергии, позволяют предположить эффективность ОГМ в профилактике и, возможно, лечении аллергических заболеваний. Накопленный опыт позволил включить ОГМ в состав отдельных продуктов на основе частично- и высокогидролизованного белка, а также аминокислотных смесей. Проводится изучение их эффективности.

Данные о профилактической роли олигосахаридов в составе грудного молока в отношении развития некротизирующего энтероколита у недоношенных детей оказались веским основанием для введения ОГМ в состав специализированных смесей для недоношенных детей. В настоящее время изучается безопасность их использования.

Таким образом, ОГМ являются безопасным и эффективным функциональным компонентом разнонаправленного действия при их включении в состав молочных смесей для здоровых детей грудного возраста. Продолжаются исследования с целью более широкого использования данного компонента, в том числе в составе лечебных продуктов. ■

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Статья подготовлена при участии АО «ИНФАПРИМ». Это никак не повлияло на мнение авторов.

CONFLICT OF INTERESTS. The article was prepared with the participation of INFAPRIM JSC. This did not affect the author's opinion in any way.

### Литература/References

- Захарова И. Н., Дмитриева Ю. А., Ягодкин М. В. Олигосахариды грудного молока: еще один шаг на пути приближения детских молочных смесей к «золотому стандарту» вскармливания ребенка // Медицинский совет. 2018; 17. [Zakharova I. N., Dmitriyeva Yu. A., Yagodkin M. V. Breast milk oligosaccharides: another step towards bringing infant formula closer to the «gold standard» of child feeding // Meditsinskiy sovet. 2018; 17.]
- Zuurveld M., van Witzenburg N. P., Garssen J., et al. Immunomodulation by human milk oligosaccharides: the potential role in prevention of allergic diseases // Front. Immunol. 2020; 11: 801.
- Masi A. C., Stewart C. J. Untangling human milk oligosaccharides and infant gut microbiome // Science. 2022; 25: 103542.
- Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides // Early Hum. Dev. 2015; 91 (11): 619-622.
- Azad M. B., Robertson B., Atakora F., et al. Human milk oligosaccharide concentrations are associated with multiple fixed and modifiable maternal characteristics, environmental factors, and feeding practices // J. Nutr. 2018; 148 (11): 1733-1742.
- McGuire M. K., Meehan C. L., McGuire M. A., et al. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically // Am. J. Clin. Nutr. 2017; 105: 1086-1100.
- Austin S., De Castro C. A., Sprenger N., et al. Human milk oligosaccharides in the milk of mothers delivering term versus preterm infants // Nutrients. 2019; 11 (6): 1282.
- Nijman R. M., Liu Y., Bunyatratchata A., et al. Characterization and quantification of oligosaccharides in human milk and infant formula // J. Agric. Food Chem. 2018; 66 (26): 6851-6859.
- Van Leeuwen S. S. Challenges and pitfalls in human milk oligosaccharide analysis // Nutrients. 2019; 11 (11): 2684.
- Kong C., Faas M. M., de Vos P., Akkerman R. Impact of dietary fibers in infant formulas on gut microbiota and the intestinal immune barrier // Food Funct. 2020; 11 (11): 9445-9467.
- Jeurink P. V., van Esch B. C., Rijnierse A., et al. Mechanisms underlying immune effects of dietary oligosaccharides // Am. J. Clin. Nutr. 2013; 98 (2): 572S-577S.
- Quin C., Vicaretti S. D., Mohtarudin N. A., et al. Influence of sulfonated and diet-derived human milk oligosaccharides on the infant microbiome and immune markers // J. Biol. Chem. 2020; 295 (12): 4035-4048.

13. Jandhyala S. M., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyyuru H., Sasikala M., Reddy D. N. Role of the normal gut microbiota // *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (29): 8836-8847.
14. Perez-Muñoz M. E., Arrieta M. C., Ramer-Tait A. E., Walter J. A critical assessment of the «sterile womb» and «in utero colonization» hypotheses: Implications for research on the pioneer infant microbiome // *Microbiome.* 2017; 5 (1): 1-19.
15. Rutayisire E., Huang K., Liu Y., Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: A systematic review // *BMC Gastroenterol.* 2016; 16 (1): 1-12.
16. Makino H., Kushiro A., Ishikawa E., et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota // *PLoSOne.* 2013; 8 (11): e78331.
17. Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases // *Microorganisms.* 2019; 7 (1): 14.
18. Sakanaka M., Gotoh A., Yoshida K., et al. Varied pathways of infant gut-associated Bifidobacterium to assimilate human milk oligosaccharides: Prevalence of the gene set and its correlation with bifidobacteria-rich microbiota formation // *Nutrients.* 2020; 12 (1): 1-21.
19. Lawson M. A. E., O'Neill I. J., Kujawska M., et al. Breast milk-derived human milk oligosaccharides promote Bifidobacterium interactions within a single ecosystem // *ISME J.* 2020; 14 (2): 635-648.
20. Langhorst J., Koch A. K., Voiss P., et al. Distinct patterns of short-chain fatty acids during flare in patients with ulcerative colitis under treatment with mesalazine or a herbal combination of myrrh, chamomile flowers, and coffee charcoal: secondary analysis of a randomized controlled trial // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 32 (2): 175-180.
21. Salli K., Hirvonen J., Siitonen J., et al. Selective utilization of the human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose, 3-fucosyllactose, and difucosyllactose by various probiotic and pathogenic bacteria // *J. Agric. Food Chem.* 2021; 69: 170-182.
22. Perdijk O., van Baarlen P., Fernandez-Gutierrez M. M., et al. Sialyllactose and galactooligosaccharides promote epithelial barrier functioning and distinctly modulate microbiota composition and short chain fatty acid production in vitro // *Front. Immunol.* 2019; 10: 94.
23. Cheng L., Kong C., Walvoort M. T. C., et al. Human milk oligosaccharides differentially modulate goblet cells under homeostatic, proinflammatory conditions and ER stress // *Mol. Nutr. Food Res.* 2020; 64 (5): e1900976.
24. Kong C., Elderman M., Cheng L., et al. Modulation of intestinal epithelial glycocalyx development by human milk oligosaccharides and non-digestible carbohydrates // *Mol. Nutr. Food Res.* 2019; 63 (17): e1900303.
25. Holscher H. D., Bode L., Tappenden K. A. Human milk oligosaccharides influence intestinal epithelial cell maturation in vitro // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2017; 64 (2): 296-301.
26. Lane J. A., O'Callaghan J., Carrington S. D., Hickey R. M. Transcriptional response of HT-29 intestinal epithelial cells to human and bovine milk oligosaccharides // *Br. J. Nutr.* 2013; 110: 2127-2137.
27. He Y., Liu S., Kling D. E., et al. The human milk oligosaccharide 20-fucosyllactose modulates CD14 expression in human enterocytes, thereby attenuating LPS-induced inflammation // *Gut.* 2016; 65: 33-46.
28. Natividad J. M., Rytz A., Keddani S., et al. Blends of human milk oligosaccharides confer intestinal epithelial barrier protection in vitro // *Nutrients.* 2020; 12 (10): 3047.
29. Wu R. Y., Li B., Koike Y., et al. Human milk oligosaccharides increase mucin expression in experimental necrotizing enterocolitis // *Mol. Nutr. Food Res.* 2019; 63 (3): e1800658.
30. Martínez F. A., Balciunas E. M., Converti A., et al. Bacteriocin production by Bifidobacterium spp. A review // *Biotechnol. Adv.* 2013; 31 (4): 482-488.
31. Wang Y., Zou Y., Wang J., et al. The protective effects of 2'-fucosyllactose against E. coli O157 infection are mediated by the regulation of gut microbiota and the inhibition of pathogen adhesion // *Nutrients.* 2020; 12: 1284.
32. Chen P., Reiter T., Huang B., et al. Prebiotic oligosaccharides potentiate host protective responses against L. Monocytogenes infection // *Pathogens.* 2017; 6 (4): 1-25.
33. Laucirica D. R., Triantis V., Schoemaker R., et al. Milk oligosaccharides inhibit human rotavirus infectivity in MA104 Cells // *J. Nutr.* 2017; 147 (9): 1709-1714.
34. Ramani S., Stewart C. J., Laucirica D. R., et al. Human milk oligosaccharides, milk microbiome and infant gut microbiome modulate neonatal rotavirus infection // *Nat. Commun.* 2018; 9: 5010.
35. Masi A. C., Embleton N. D., Lamb C. A., et al. Human milk oligosaccharide



- DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotizing enterocolitis // *Gut*. 2021; 70 (12): 2273-2282.
36. Langhorst J., Koch A. K., Voiss P., et al. Distinct patterns of short-chain fatty acids during flare in patients with ulcerative colitis under treatment with mesalamine or a herbal combination of myrrh, chamomile flowers, and coffee charcoal: secondary analysis of a randomized controlled trial // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2020; 32 (2): 175-180.
  37. Cheng L., Kiewiet M. B. G., Groeneveld A., et al. Human milk oligosaccharides and its acid hydrolysate LNT2 show immunomodulatory effects via TLRs in a dose and structure-dependent way // *J. Funct. Foods*. 2019; 59: 174-184.
  38. Wang C., Zhang M., Guo H., et al. Human milk oligosaccharides protect against necrotizing enterocolitis by inhibiting intestinal damage via increasing the proliferation of crypt cells // *Mol. Nutr. Food Res.* 2019; 63 (18): 1-12.
  39. Sodhi C. P., Wipf P., Yamaguchi Y., et al. The human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose protect against the development of necrotizing enterocolitis by inhibiting toll-like receptor 4 signaling // *Pediatr. Res.* 2021; 89 (1): 91-101.
  40. Kruschitz A., Nidetzky B. Downstream processing technologies in the biocatalytic production of oligosacch // *Biotechnol. Adv.* 2020; 43: 107568.
  41. Лукоянова О. Л., Боровик Т. Э., Суржик А. В. Новые взгляды на понятие «пребиотик» и их влияние на организм ребенка // *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16 (6): 516-521.  
[Lukoianova O. L., Borovik T. E., Surzhik A. V. New views on the concept of «prebiotics» and their impact on the child's body // *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2017; 16 (6): 516-521.]
  42. Yu S., Liu J., Yun E. J., et al. Production of a human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose by metabolically engineered *Saccharomyces cerevisiae* // *Microb. Cell Fact.* 2018; 17: 101.
  43. Chin Y., Kim J., Kim J., et al. Improved production of 2'-fucosyllactose in engineered *Escherichia coli* by expressing putative alpha-1,2-fucosyltransferase, wcf from *Bacteroides fragilis* // *J. Biotechnol.* 2017; 257: 192-198.
  44. Ванденлас И., Захарова И. Н., Дмитриева Ю. А. Пребиотики в детских молочных смесях // *Вопросы современной педиатрии*. 2015; 14 (1): 31-37.  
[Vanderplas I., Zakharova I. N., Dmitriyeva Yu. A. Prebiotics in infant formula // *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2015; 14 (1): 31-37]
  45. Директива Европейской 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 <https://www.fsvps.ru/fsvpsdocs/ru/laws/eu/2006-141.pdf>.  
[European Commission Directive (EU) No. 2006/141/EU of 22.12.06 on infant formulas for first and second steps, amending Directive 1999/21/EU <https://www.fsvps.ru/fsvpsdocs/ru/laws/eu/2006-141.pdf>]
  46. 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.
  47. Safety of 2'-fucosyllactose/difucosyllactose mixture as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 // *EFSA Journal*. 2019; 17 (6): 5717.
  48. Safety of 3'-Sialyllactose (3'-SL) sodium salt as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 // *EFSA Journal*. 2020; 18 (5): 6098.
  49. Safety of 3-FL (3-Fucosyllactose) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283 // *EFSA Journal*. 2021; 19 (6): 6662.
  50. Discussion paper on harmonized probiotic guidelines for use in foods and dietary supplements. Joint FAO/WHO food standards programme Codex Committee on nutrition and foods for special dietary uses. Forty-first Session. Dusseldorf, Germany 24-29 November 2019.
  51. Marriage B. J., Buck R. H., Goehring K. C., Oliver J. S., Williams J. A. 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.
  52. Kajzer J., Oliver J., Marriage B. Gastrointestinal tolerance of formula supplemented with oligosaccharides // *FASEB J.* 2016; 30: 671.
  53. Goehring K. C., Marriage B. J., Oliver J. S., Wilder J. A., Barrett E. G., Buck R. H. Similar to those who are breastfed, infants fed a formula containing 2'-fucosyllactose have lower inflammatory cytokines in a randomized controlled trial // *J. Nutr.* 2016; 146.
  54. Reverri E. J., Devitt A. A., Kajzer J. A., Baggs G. E., Borschel M. W. Review of the Clinical Experiences of Feeding Infants Formula Containing the Human Milk Oligosaccharide 2'-Fucosyllactose // *Nutrients*. 2018; 10.
  55. Puccio G., Alliet P., Cajozzo 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.
  56. Bulent EnisSekere et al. An Expert Panel Statement on the Beneficial Effects of Human Milk Oligosaccharides (HMOs) in Early Life and Potential Utility of HMO-Supplemented Infant Formula in Cow's Milk Protein Allergy // *Journal of Asthma and Allergy* 2021; 14: 1147-1164.
  57. Román E., Moreno Villares J. M., Domínguez Ortega F., et al. Real-world study in infants fed with an infant formula with two human milk oligosaccharides // *Nutr. Hosp.* 2020; 37 (4): 698-706.
  58. Berger B., Porta N., Foata F., Grathwohl D., Delley M., Moine D., Charpagne A., Siegwald L., Descombes P., Alliet P., Puccio G., Steenhout P., Mercenier A., Sprenger N. Linking human milk oligosaccharides, infant fecal community types, and later risk to require antibiotics // *mBio*. 2020.11: e03196-19.
  59. Parschat K., Melsaether C., Rasch Jäpelt K., Jennewein S. Clinical Evaluation of 16-Week Supplementation with n Growth // *Nutrients*. 2021; 13: 2871.

#### Сведения об авторах:

**Гмошинский Иван Всеволодович**, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи; 109240, Россия, Москва, Устьинский проезд, 2/14; [gmosh@ion.ru](mailto:gmosh@ion.ru)

**Скворцова Вера Алексеевна**, д.м.н., главный научный сотрудник отделения питания здорового и больного ребенка, Федеральное государственное автономное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации; 119991, Россия, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1; Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского; 129090, Россия, Москва, пр-т Мира 61/2м; [vera.skvortsova@mail.ru](mailto:vera.skvortsova@mail.ru)

**Боровик Татьяна Эдуардовна**, д.м.н., главный научный сотрудник, заведующий отделением питания здорового и больного ребенка, Федеральное государственное автономное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации; 119991, Россия, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации; 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8 стр. 2; [nutrborovik@nczd.ru](mailto:nutrborovik@nczd.ru)

**Бокковская Ольга Алексеевна**, директор по развитию, Акционерное общество «ИНФАПРИМ»; 123060, Россия, Москва, ул. Маршала Рыбалко, 2 корп. 8; [obokovskaya@gmail.com](mailto:obokovskaya@gmail.com)

#### Information about the authors:

**Ivan V. Gmoshinsky**, Dr. of Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Food Toxicology and Nanotechnology Safety Assessment, Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety; 2/14 Ustinsky passage, Moscow, 109240, Russia; [gmosh@ion.ru](mailto:gmosh@ion.ru)

**Vera A. Skvortsova**, Dr. of Sci. (Med.), Chief Researcher, Department of Healthy and Sick Child Nutrition, Federal State Autonomous Institution Chief Researcher, Head of the Department of Healthy and Sick Child Nutrition, National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2 p. 1 Lomonosovsky Prospekt, Moscow, 119991, Russia; Moscow Regional Research Clinical Institute named after M. F. Vladimirsky; 61/2m Mira Ave., Moscow, 129090, Russia; [vera.skvortsova@mail.ru](mailto:vera.skvortsova@mail.ru)

**Tatiana E. Borovik**, Dr. of Sci. (Med.), Federal State Autonomous Institution National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2 p. 1 Lomonosovsky Prospekt, Moscow, 119991, Russia; Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 8 p. 2 Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia; [nutrborovik@nczd.ru](mailto:nutrborovik@nczd.ru)

**Olga A. Bokovskaya**, R&D director of INFAPRIM Joint Stock Company; 2 b. 8 Marshal Rybalko str., Moscow, 123060, Russia; [obokovskaya@gmail.com](mailto:obokovskaya@gmail.com)