

УДК 613.287.1(091):613.22:612.33

Е.Г. Макарова¹, О.К. Нетребенко^{1,2}, С.Е. Украинцев¹

Олигосахариды грудного молока: история открытия, структура и защитные функции*

¹ООО «Нестле Россия»²ФГБОУ ВО РНИИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва, РФ

DOI 10.24110/0031-403X-2018-97-4-152-160

В статье представлен обзор литературы по олигосахаридам грудного молока (ОГМ). Согласно современным данным, ОГМ обладают важными защитными свойствами: препятствуют адгезии патогенов и токсинов, снижают уровень провоспалительных цитокинов, улучшают целостность стенки кишечника. Важным фактором защиты является иммуномодулирующее действие ОГМ, которое осуществляется посредством связи ОГМ с рецепторами — лектинами. Представлены данные о механизмах связи галектинов с ОГМ и действии галектинов на состояние иммунных клеток и функций. **Ключевые слова:** грудное молоко, олигосахариды, структура, защитные функции, кишечная микробиота, различные виды вскармливания младенцев. **Цит.:** Е.Г. Макарова, О.К. Нетребенко, С.Е. Украинцев. Олигосахариды грудного молока: история открытия, структура и защитные функции. Педиатрия. 2018; 97 (4): 152–160.

Breast milk oligosaccharides: the history of discovery, structure and protective functions

E.G. Makarova¹, O.K. Netrebenko^{1,2}, S.E. Ukraintsev¹¹Nestle-Russia²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The article provides a literature review on breast milk oligosaccharides (BMO). According to modern data, BMO have important protective properties: they prevent the adhesion of pathogens and toxins, reduce the level of pro-inflammatory cytokines, improve the intestinal wall integrity. An important factor of protection is the immunomodulatory effect of BMO, which is performed through the connection of BMO with receptors — lectins. The article presents data on association of galectins with BMO mechanisms, and the action of galectins on the state of immune cells and functions.

Key words: breast milk, oligosaccharides, structure, protective functions, intestinal microbiota, different kinds of infants feeding.**Quote:** E.G. Makarova, O.K. Netrebenko, S.E. Ukraintsev. Breast milk oligosaccharides: the history of discovery, structure and protective functions. *Pediatrics*. 2018; 97 (4): 152–160.

Факт наличия в грудном молоке (ГМ) — продукте, состав которого формировался в ходе многовековой эволюции — непевариваемых компонентов, не несущих нутритивной функции, является парадоксальным и уже много лет привлекает внимание ученых и исследователей. Многочисленные позитивные эффекты олигосахаридов ГМ (ОГМ) в отношении здоровья ребенка включают в себя поддержание процессов становления иммунного ответа, барьерной функции кишечника, защиту от патогенов — о них и пойдет речь в данной публикации.

История открытия и изучения ОГМ

Открытие ОГМ произошло, благодаря как работам клиницистов, которые пытались объяснить влияние грудного вскармливания (ГВ) на здоровье младенцев, так и трудам химиков, которые работали над расшифровкой уникальной углеводной фракции ГМ. Несмотря на то, что еще в 1886 г., когда смертность детей, лишенных ГМ, достигала 30%, известный врач и микробиолог Теодор Эшерих (Theodor Escherich) впервые обнаружил взаимосвязь между физиологией пищеварения у детей и кишечными бактериями, а несколькими годами позднее,

в 1900 г., его бывший студент Эрнст Моро (Ernst Moro) описал различия бактериальной композиции стула у младенцев на грудном и искусственном вскармливании (ИВ), компонент, определяющий состав кишечной микробиоты (КМБ), оставался неизвестным [1,2].

Исследования химиков шли параллельно наблюдениям педиатров и микробиологов. Их внимание к данной проблеме привлекли первые работы о том, что грудное и коровье молоко имеют различия в углеводном составе. Так, еще в конце XIX века Жорж Денижес (Georges Deniges) обнаружил, что, помимо лактозы, женское молоко, в отличие от коровьего, содержит неизвестную фракцию углеводов. Спустя 40 лет, в 1929–1933 гг., Майкл Полоновски и Альберт Леспагнол (Michel Polonowski, Albert Lespagnol) изобрели методику, которая позволила выделить компоненты этой фракции, названной ими «gynolactose». В 1954 г. ученые совместно с Жаном Монтрей (Jean Montreuil) при помощи хроматографии выделили из этой фракции первые олигосахариды (2-фукозиллактозу и 3-фукозиллактозу). Однако структура остальных ОГМ и их потенциальные функции все еще оставались неизученными [2,3].

*Опубликовано: Педиатрия. — 2018. — Т.97, № 4. — С. 152–160.

Контактная информация: *Нетребенко Ольга Константиновна* — д.м.н., проф. каф. госпитальной педиатрии №1 ФГБОУ ВО РНИИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, руководитель Института питания Нестле (Россия). Адрес: Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1. Тел.: (495) 725-70-67. E-mail: olga.netrebenko@ru.nestle.com

Настоящий прорыв в изучении ОГМ произошел в результате совместной работы химика Ричарда Куна (Richard Kuhn) и педиатра Пола Гьерджи (Paul Gyorgy), который был учеником Эрнста Моро. В 1926 г. Герберт Шонфельд (Herbert Schonfeld) выдвинул теорию о том, что ГМ содержит фактор роста для *Lactobacillus bifidus* (позднее этот штамм отнесен к *Bifidobacterium bifidus*). Природа «бифидус-фактора» была неизвестна в то время, сам Шонфельд предполагал, что это может быть какой-либо витамин. Ричард Кун и Пол Гьерджи, вдохновленные работами Э. Моро о микробиоте и М. Полоновски о фракции «gynolactose», смогли доказать, что «бифидус-фактор» ГМ состоит из олигосахаридов, содержащих N-ацетил-глюкозамин. В последующие годы как группой Ричарда Куна, так и группой Жана Монреа были идентифицированы и описаны еще десятки отдельных ОГМ. Но дальнейшая расшифровка фракции ОГМ стала возможной с внедрением новых методов исследования. Хайнц Эгг (Heinz Egge), один из учеников Ричарда Куна, внедрил метод масс-спектрометрии, который отличался от предшествующих методик большей чувствительностью и надежностью. Это позволило описать и дать характеристику большему количеству ОГМ и установить данный метод основным для картирования и секвенирования ОГМ [2,3].

Все эти ученые вошли в историю науки как «пионеры» изучения ОГМ, чьи открытия привели к нашему настоящему представлению об ОГМ.

Структура ОГМ

Углеводная составляющая ГМ представлена лактозой и ОГМ. ОГМ являются неконъюгированными гликанами, которые не перевариваются и не имеют нутритивной ценности. Известно, что фракция ОГМ — это третий

по величине компонент ГМ после лактозы и жиров. Ее содержание варьирует от 20–25 г/л в молозиве до 10–15 г/л в зрелом молоке. ГМ человека — самый богатый источник олигосахаридов среди всех млекопитающих — например, их содержание в коровьем молоке примерно в 1000 раз ниже. Если из 500 калорий, которые лактирующая женщина расходует ежедневно для секреции молока, 10% затрачиваются на синтез большого количества олигосахаридов, которые не имеют нутритивной роли, то эти соединения, по-видимому, должны играть важную роль для здоровья ребенка [3,4].

Основу ОГМ составляют 5 моносахаров: глюкоза (Glc), галактоза (Gal), N-ацетил-глюкозамин (GlcNAc), фукоза (Fuc), сиаловая кислота (Sia) (N-ацетил-нейраминная кислота (Neu5Ac)). Биосинтез этих соединений происходит по определенной схеме (рис. 1). Все ОГМ содержат лактозное ядро, которое элонгируется одним или несколькими моносахаридами. Лактоза может быть фукозилирована в области галактозы по $\alpha 1-2$ связи с образованием 2-фукозил-лактозы (2-FL) или в области глюкозы по $\alpha 1-3$ связи с образованием 3-фукозил-лактозы (3-FL). В случае присоединения сиаловой кислоты по $\alpha 2-3$ или $\alpha 2-6$ связям происходит образование 3-сиалиллактозы (3-SL) или 6-сиалиллактозы (6-SL) соответственно. Кроме того, лактоза может элонгироваться лакто-N-биозой или N-ацетил-глюкозамином по $\alpha 1-3$ или $\alpha 1-6$ связи. В ГМ идентифицированы сложные ОГМ, в которых наблюдается 10 и более таких дисахаридных повторов. Кроме того, основная цепь ОГМ может быть дополнена одним или несколькими остатками фукозы по $\alpha 1-2$, $\alpha 1-3$ или $\alpha 1-4$ связи, либо одним или несколькими остатками сиаловой кислоты (N-ацетил-нейраминная кислота) по $\alpha 2-3$ или

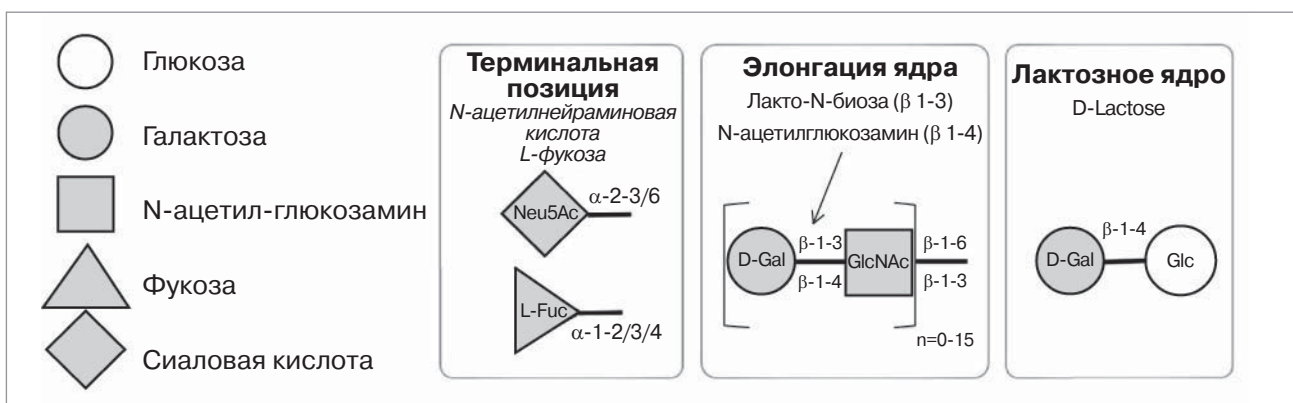


Рис. 1. Общие структурные особенности ОГМ

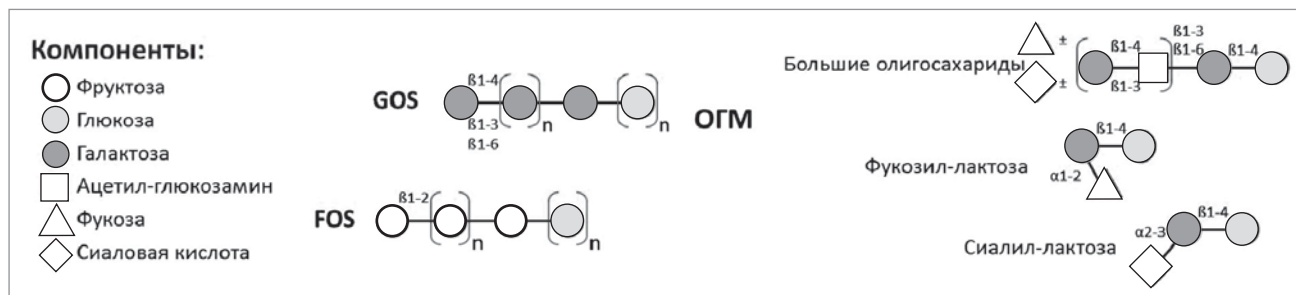


Рис. 2. Сравнение структуры ОГМ и GOS/FOS

α 2–6 связи [5]. Подобное разнообразие позволяет предположить, что функции ОГМ являются структурно-специфичными – олигосахариды разных групп выполняют разные функции либо взаимно дополняют друг друга. Количество разных ОГМ потенциально может исчисляться тысячами, к настоящему времени описана структура более 200 из них.

Все ОГМ соответственно их химической структуре можно разделить на три группы: нейтральные фуколизированные (например, 2-FL), нейтральные нефуколизированные (например, лакто-N-неотетраоза (LNnT)), кислые сиализированные (например, 3-SL). Пропорции содержания нейтральных фуколизированных, нейтральных нефуколизированных и сиализированных ОГМ в зрелом молоке при доношенной беременности составляют 35–50%, 42–55% и 12–14% соответственно. Таким образом, нейтральные ОГМ составляют около 75% от всех олигосахаридов [6]. Несмотря на большое разнообразие, 80% всех ОГМ представлены 12 наиболее часто встречающимися олигосахаридами. Среди них 2-FL является наиболее распространенным, его доля составляет около 30%. LNnT входит в десятку наиболее распространенных и составляет 2–3% от всех ОГМ, в связи с чем именно эти два олигосахарида являются наиболее привлекательными с точки зрения введения их в состав детских молочных смесей, а также учитывая разную направленность и механизмы их благоприятного действия [6,7].

Коровье молоко содержит фактически следовые количества олигосахаридов, представленных в основном кислыми и нейтральными нефуколизированными олигосахаридами, которые отличаются отсутствием N-ацетил-глюкозамина, входящего в состав структуры многих ОГМ [8]. Это является еще одной причиной, по которой применение коровьего молока в питании детей первых месяцев жизни является недопустимым.

Галакто-олигосахариды (GOS) и фрукто-олигосахариды (FOS), традиционно применяемые в качестве пребиотиков в детских молочных смесях, не являются структурными аналогами ОГМ и, соответственно, не могут полностью повторять функции последних (рис. 2). GOS и FOS имеют простую структуру (FOS – цепочки фукозы с молекулой глюкозы на терминальном окончании, GOS – цепочки галактозы с молекулой глюкозы на терминальном окончании), при этом возможность наличия различных пространственных конформаций GOS не делает их аналогичными ОГМ, поскольку биоактивные эффекты ОГМ связаны не только с их стереоскопической изомеризацией, но и с наличием в их составе фукозы, сиаловой кислоты или N-ацетил-глюкозамина, которые в GOS отсутствуют [9].

Вариабельность содержания ОГМ

Состав и разнообразие ОГМ у разных матерей варьируют и зависят от гестационного возраста, продолжительности лактации, нутритивного статуса матери, приема медикаментов и других факторов. Молоко женщин, родивших преждевременно, отличается более высоким уровнем ОГМ в сравнении с женщинами, родившими в срок [10]. На протяжении лактации отмечается изменение содержания ОГМ в сторону снижения. Концентрации ОГМ в молозиве существенно выше, чем в зрелом молоке, в первые месяцы лактации их содержание в зрелом молоке выше, чем в последующие. Так, в работе Austin (2016) был проведен анализ 446 образцов ГМ женщин из трех разных городов Китая. Медиана уровня 2'FL в первый месяц лактации составила 2 г/л, далее отмечалось снижение до 1,3 г/л в 2–4 месяца и 1,2 г/л в 4–8 месяцев лактации. Медиана уровня LNnT составила в первый месяц 110–210 мг/л и снижалась в дальнейшем до 50–100 мг/л к 4 месяцам лактации [11]. Таким образом, минимальное содержание

2'FL в ГМ составляет около 1 г на литр, а минимальное содержание LNT — около 0,05 г в литре.

Наиболее значимые вариации в составе ОГМ связаны с секреторным статусом матери и группами крови по системе Льюиса (Lewis). Фермент фукозилтрансфераза 2 (FUT2) отвечает за присоединение фукозы в положении $\alpha 1-2$, как в ОГМ FUT2 активно экспрессируется более чем у 70% женщин в европейской популяции (их относят к секреторному типу). В молоке этих женщин отмечается высокое содержание $\alpha 1-2$ -фукозилированных ОГМ, например, 2'-фукозиллактозы (2-FL). Несекреторный тип характеризуется отсутствием экспрессии фермента FUT2, в ГМ у таких женщин отмечается сниженное содержание либо отсутствие $\alpha 1-2$ -фукозиллактозы (2-FL).

Другой фермент, фукозилтрансфераза 3 (FUT3), катализирующий присоединение фукозы по связи $\alpha 1-3/4$, также может быть неактивен у части популяции (Льюис негативный тип) [3]. В ГМ этих женщин снижено содержание $\alpha 1-3/4$ -фукозилированных ОГМ (3-FL). В зависимости от активности экспрессии ферментов FUT2 и FUT3 женщины могут быть разделены на 4 группы, имеющие существенные различия в содержании и композиции ОГМ: Льюис позитивный секреторный тип (FUT2 активен, FUT3 активен), Льюис негативный секреторный тип (FUT2 активен, FUT3 инактивирован), Льюис позитивный несекреторный тип (FUT2 инактивирован, FUT3 активен), Льюис негативный несекреторный тип (FUT2 инактивирован, FUT3 инактивирован).

В процесс образования кислых ОГМ вовлечено несколько сиалилтрансфераз, катализирующих присоединение сиаловой кислоты. Полного отсутствия ферментов или кислых ОГМ в настоящее время не описано. Однако вариации в композиции кислых ОГМ у разных женщин позволяют предположить существенные индивидуальные отличия в активности экспрессии этих ферментов [5].

Метаболизм ОГМ

Устойчивость ОГМ к низким значениям рН желудка, панкреатическим и кишечным ферментам первоначально была установлена еще *in vitro* [12, 13]. В дальнейшем эта гипотеза получила подтверждение на основании данных клинических исследований, проведенных в 1980–1990 гг., в которых было показано, что ОГМ достигают дистальных отделов кишечника и обнаруживаются в стуле младенцев в интактном виде [17].

Более поздние работы, с применением более новых и точных методов исследования, позволили, с одной стороны, подтвердить, а, с другой стороны, уточнить эти данные. Была выдвинута теория о многоэтапном процессинге ОГМ, который зависит от возраста ребенка, группы крови и режима вскармливания [18–20]. На первом этапе, который наблюдается от рождения до 2 месяцев жизни, в стуле ребенка обнаруживаются как сиализированные, так и несиализированные ОГМ, которые сходны, но не идентичны тем, что есть в ГМ в это время. Это, вероятно, говорит о том, что ОГМ в этот период утилизируется КМБ в минимальном объеме, а основной функцией ОГМ является защитная. На втором этапе стул младенцев содержит большое количество продуктов деградации ОГМ, которые значительно отличаются от олигосахаров в образцах ГМ этого периода, что может свидетельствовать о высокой степени процессинга и деградации ОГМ представителями микробиоты. На третьем этапе, который начинается с момента введения прикорма, ОГМ не обнаруживаются в стуле детей, что, по-видимому, связано с их полной утилизацией [20].

Еще более интересные данные были получены в 2016 г. в работе Dotz et al. Авторы изучали профиль нейтральных олигосахаридов в стуле у младенцев на различных видах вскармливания (ГВ, ИВ, смешанное вскармливание — СВ) в возрасте 2 и 7 месяцев. В возрасте 2 месяцев в зависимости от представленности ОГМ и их метаболитов в стуле детей на ГВ были выделены 3 группы: 1) высокое разнообразие с присутствием до 30 ОГМ-подобных структур; 2) доминирование одного или нескольких ОГМ и их метаболитов; 3) отсутствие ОГМ и метаболитов. Наиболее многочисленной была первая группа. В возрасте 7 месяцев ОГМ-подобные структуры не обнаруживались в стуле у детей как на ИВ, так и на ГВ [21]. Вероятно, наблюдаемые паттерны экскреции ОГМ и их метаболитов отражают процесс утилизации этих соединений представителями микробного сообщества кишечника и, соответственно, сам процесс становления КМБ в индивидуальном аспекте.

Однако особый интерес исследователей вызвала публикация Rudloff et al. (1996), которыми впервые было показано наличие интактных ОГМ в моче недоношенных детей, находящихся на ГВ. Эти результаты позволили предположить, что ОГМ могут абсорбировать-

ся из кишечника и поступать в системный кровоток. Эта гипотеза была подтверждена в ходе дальнейших исследований. Кормящим матерям орально вводился болюс ¹³C-меченной галактозой, которая включалась в биосинтез ОГМ. В дальнейшем 1% введенной меченной галактозы обнаруживался в моче младенцев [22–24].

Таким образом, результаты проведенных клинических исследований позволяют предположить наличие у ОГМ, помимо местных (на уровне кишечника), системных эффектов, которые еще только предстоит изучить.

Защитные функции ОГМ

К настоящему времени появилось много доказательств влияния ОГМ на иммунные функции. Влияние ОГМ может быть непрямым — посредством улучшения состава КМБ; также есть многочисленные данные о прямом влиянии ОГМ на иммунитет.

Известно, что у детей, находящихся на ГВ, в КМБ доминируют бифидобактерии (БФ). Доминирование БФ в кишечнике младенца, получающего ГМ, устанавливается в течение первых дней/недель после рождения и важную роль в этом процессе играют ОГМ, которые способствуют росту БФ [25]. БФ обладают ферментами гликозид-гидролазами для наиболее полной утилизации ОГМ: α-фукозидазы, α-сиалидазы, β-галактозидазы, β-N-гексозаминазы.

БФ влияют на иммунные функции несколькими способами: способствуют продукции противовоспалительных цитокинов, сохраняют целостность кишечной стенки, продуцируют бактериоцины и метаболиты, снижающие рН и влияющие на экспрессию генов [26]. В отличие от патогенов и других комменсальных бактерий, именно БФ наиболее активны в переключении поляризации Th-клеток из направления Th2, характерного для внутриутробного периода, в направление Th1, обеспечивающего «сбалансированность» иммунного ответа [27].

Прямое действие ОГМ включает несколько направлений, обеспечивающих максимальную защиту новорожденного:

- антиадгезивные и антимикробные свойства в отношении целого ряда патогенов;
- сохранение целостности кишечного барьера;
- снижение продукции провоспалительных цитокинов;
- прямое иммуномодулирующее влияние;
- действие на иммунные клетки посредством лиганд;
- влияние на экспрессию генов.

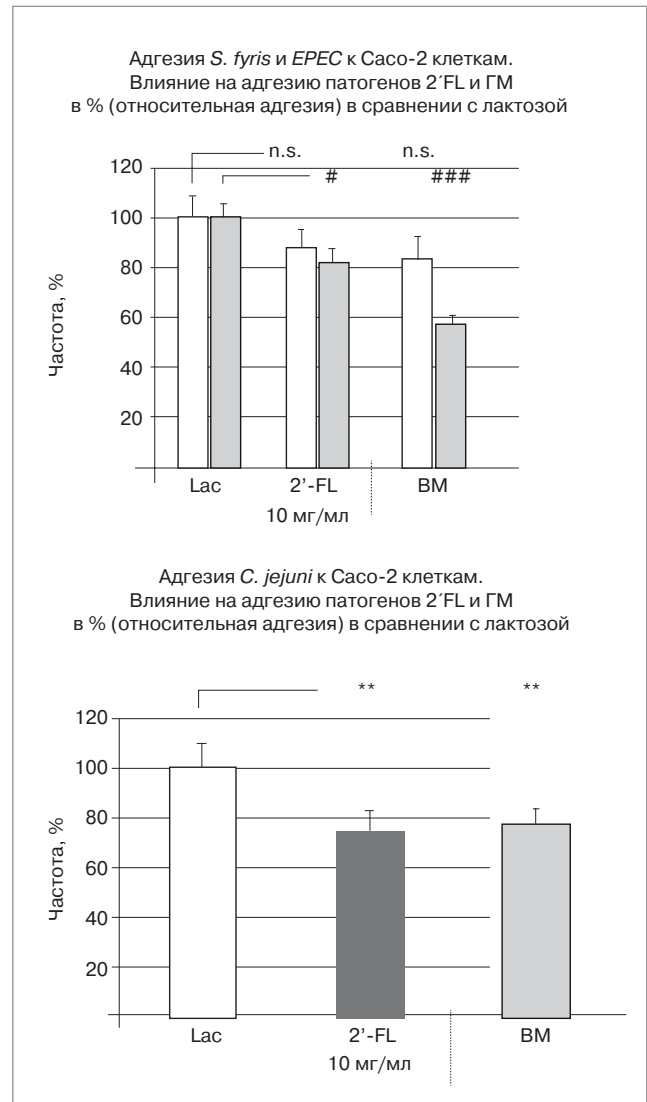


Рис. 3. 2'FL ингибирует адгезию патогенов к клеткам кишечника *in vitro*

По данным Weichert et al. Nutr. Res., 2013; BM=human milk; Caco-2 cells=human intestinal cell line; Lac=lactose; *S. (Salmonella) typhimurium*, *EPEC (Enteropathogenic E. coli)*, *C. (Campylobacter) jejuni*; 2'FL ингибирует адгезию *Campylobacter (C.) jejuni*, *enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)* и *Salmonella typhimurium* к клеткам кишечника (снижение на 26, 18 и 12% соответственно), первый шаг к колонизации и последующей инфекционной диарее; □ — *Salmonella typhimurium*, ■ — *EPEC*.

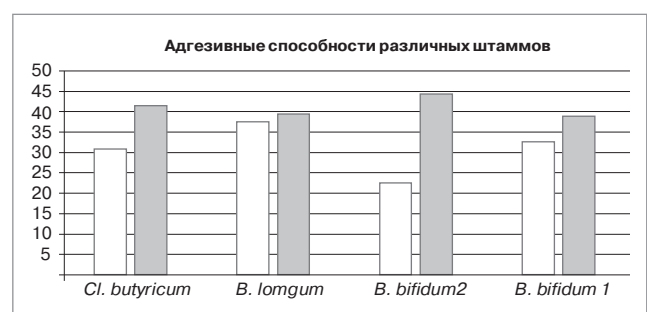


Рис. 4. Способность исследуемых штаммов к адгезии при наличии или отсутствии ОГМ.

По данным S. Musilova, 2017.

□ — наличие ОГМ, ■ — отсутствие ОГМ.

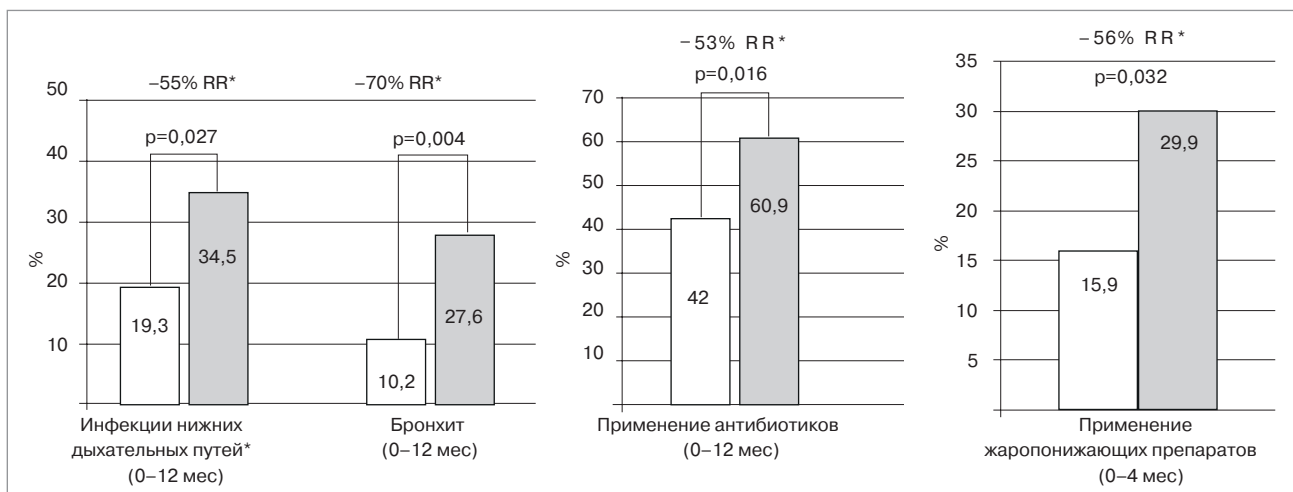


Рис. 5. Заболеваемость и применение медикаментов

Дети, получающие смесь с ОГМ (в сравнении с CF), по данным отчета, достоверно реже страдали бронхитом, инфекциями нижних дыхательных путей, реже использовали антибиотики до 12 месяцев жизни и жаропонижающие препараты в первые 4 месяца жизни. Это демонстрация протективного эффекта смеси с двумя ОГМ (2 FL и LNnT) после 6-месячного приема смеси. По данным Ruccio et al. 2017.

□ — смесь Nestle с 2'FL и LnNT, ■ — смесь Nestle без 2'FL и LnNT

*RR — снижение риска; *AE (нежелательное явление) — кластер.

Антиадгезивное и антимикробное действие

ОГМ, особенно фукозилированные, близки по структуре к клеточным рецепторам и могут предупреждать адгезию патогенов. ОГС могут связываться с клеточным рецептором на поверхности эпителиоцитов, и в результате это место связи будет защищено от адгезии патогенов. Второй механизм действия ОГМ состоит в соединении ОГМ с рецепторами на самих бактериях или вирусах [28]. К настоящему времени доказано ингибирующее действие ОГМ на целый ряд патогенов: *E. coli*, *Vibrio cholera*, *Salmonella fuyris* [29] (рис. 3). Частота инфекционных гастроэнтеритов достоверно ниже у детей на ГВ, более того, снижение уровня ОГМ увеличивает частоту заболеваемости грудных детей — в частности, острыми кишечными инфекциями [30]. ОГМ ингибируют рост стрептококка группы В и адгезию *Campilobacter jejuni* [9]. Появились данные экспериментальных исследований по противовирусному действию ОГМ. В работах S. Hester (2015) было показано, что ОГМ снижают экспрессию вирусной репликазы (белок NSP4) и таким образом останавливают развитие вирусной инфекции [31]. Противомикробное действие ОГМ касается, в основном, условно-патогенных микробов и патогенов. На рис. 4 показан рост БФ разных штаммов в сравнении с ростом кластридий [32]. По данным S. Weichart и соавт., ОГМ ингибируют адгезию *Ps. aeroginosa* и кишечных патогенов к интестинальным

и респираторным клеткам [33]. Важно отметить, что использование ОГМ или смесей, включающих в свой состав отдельные олигосахариды — 2-фукозиллактозу (2FL) и лактоN-неотетраозу (LNnT), снижают частоту и риск развития инфекционных заболеваний у детей грудного возраста (см. таблицу), а также снижают частоту использования различных медикаментов, в т.ч. антибиотиков (рис. 5) [34].

Антимикробное действие ОГМ обусловлено особенностями их строения — как структурного, так и благодаря наличию в их составе фукозы, сиаловой кислоты или N-ацетилглюкозамина.

ОГМ и барьерная функция кишечника

У новорожденных детей, получающих ГВ, более полноценно формируется целостность кишечного барьера по сравнению с детьми, не получающими ГМ. Во многом это явление связано с характером КМБ, так как комменсальная микробиота и, в частности, БФ увеличивают экспрессию генов, ответственных за продукцию белков плотных сочленений. ГВ обеспечивает благоприятный состав КМБ с доминированием БФ. В ГМ много компонентов, влияющих на состав КМБ, и одним из важнейших являются ОГМ.

Экспериментальные исследования действия ОГМ на созревание кишечной стенки проводились на культуре клеток кишечника. Инкубирование клеток кишечника с отдельными олигосахаридами (2 FL) и/или LNnT) увеличива-

ло дифференциацию клеток кишечника, активность ферментов (сахаразы) [35]. Активность каспазы (показатель апоптоза) в этом исследовании также увеличивалась, что свидетельствует об активности процессов роста и обновления энтероцитов. Параметры трансэпителиальной резистентности при инкубации клеток с лакто-N-неотетраозой показали большую плотность кишечного барьера (меньшую проницаемость кишечного барьера). Высокие дозы отдельных олигосахаридов или комбинации различных ОГМ увеличивали дифференциацию клеток кишечника [36]. Дополнительным фактором созревания кишечной стенки является наличие транскрипционной активности у ОГМ [37]. Этот процесс изучался на культуре клеток кишечника, где транскриптом оценивался до и после инкубации клеток с ОГМ. Выявлено изменение экспрессии генов нескольких биологических процессов, включая ответ клеток на стимулы, клеточные сигналы, а также созревание кишечной стенки и сигналы иммунной системы. Транскрипционная активность ОГМ также влияет на экспрессию генов гликопротеинов эпителиальных клеток. Модуляция гликанов клетки хозяина может быть одним из механизмов для предотвращения адгезии патогенов к клетке-хозяину, повышения устойчивости к инфекции. Это эффект является структурно-специфичным и не показан для других видов олигосахаридов, таких как GOS/FOS.

Изменение продукции про- и противовоспалительных цитокинов

Говоря об изменении продукции цитокинов под действием ОГМ, следует отметить благоприятное влияние увеличения числа БФ, которые продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, бутират, пропионат). Эти кислоты влияют на экспрессию генов и способны подавлять продукцию провоспалительных цитокинов и снижать активность воспаления [38]. Есть прямые доказательства влияния БФ на экспрессию генов. В экспериментальном исследовании на культуре клеток кишечника изучался транскриптом клеток при инкубации с БФ. В работе было показано, что действие БФ зависит от среды, на которой они росли. Максимальное действие отмечено при использовании БФ, выращенных на ОГМ. Транскриптом клеток, инкубируемых с этими БФ, отличался от транскриптома клеток, инкубируемых с БФ, выращенных на других средах [39]. Были продемонстрированы снижение

активности генов, связанных с продукцией хемокинов, миграции лейкоцитов, а также повышение экспрессии генов, влияющих на клеточные процессы, апоптоз.

Интерес представляют исследования цитокинов у детей, получающих разные виды вскармливания с использованием отдельных пребиотиков или ОГМ. В работе К. Goehring под наблюдением были 3 группы детей: дети находились на ГВ или получали смесь с добавлением GOS (контроль) или экспериментальную смесь с добавлением 2FL. Результаты исследования показали, что ГВ и смесь с 2FL на 28% снижали уровень провоспалительных цитокинов (IL1, IL6, TNF α) в плазме крови по сравнению с контролем. В исследовании лимфоцитов после стимуляции клеток с RSV *in vitro* значения цитокинов детей, получавших ГВ, не отличались от детей, получавших смесь с 2FL, при этом уровень TNF α был на 31%, IFN γ — на 54% ниже по сравнению с контролем [40]. В этой работе выявлен дозозависимый эффект: действие 2FL появлялось после увеличения его концентрации не менее 50 мкг/мл.

Механизмы действия ОГМ анализируются в работе У. Не. По данным исследования, ОГМ снижают экспрессию CD14, а также экспрессию генов, контролирующую ядерный фактор κB , ответственный за продукцию провоспалительных цитокинов [41].

Иммунотенулирующая роль ОГМ

Иммунотенулирующие свойства ОГМ реализуются посредством их связи с лигандами — лектинами.

Лектины обладают способностью высокоспецифично связывать остатки углеводов на поверхности клеток, в частности, вызывая их агглютинацию. Лектины нередко участвуют в клеточном распознавании, например, некоторые патогенные микроорганизмы используют лектины для прикрепления к клеткам пораженного организма. В зависимости от их связи с молекулами углеводов они делятся на несколько видов:

- С-лектины (селектины) — их рецепторы расположены на поверхности дендритных клеток, определяют индукцию толерантности или активацию лимфоцитов, имеют CRD (углевод-распознающий домен), специфичный для фукозы. Экспрессируются в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) младенцев;
- Siglecs — лектины, связывающие сиаловую кислоту, находятся на поверхности иммунных клеток (16 видов);

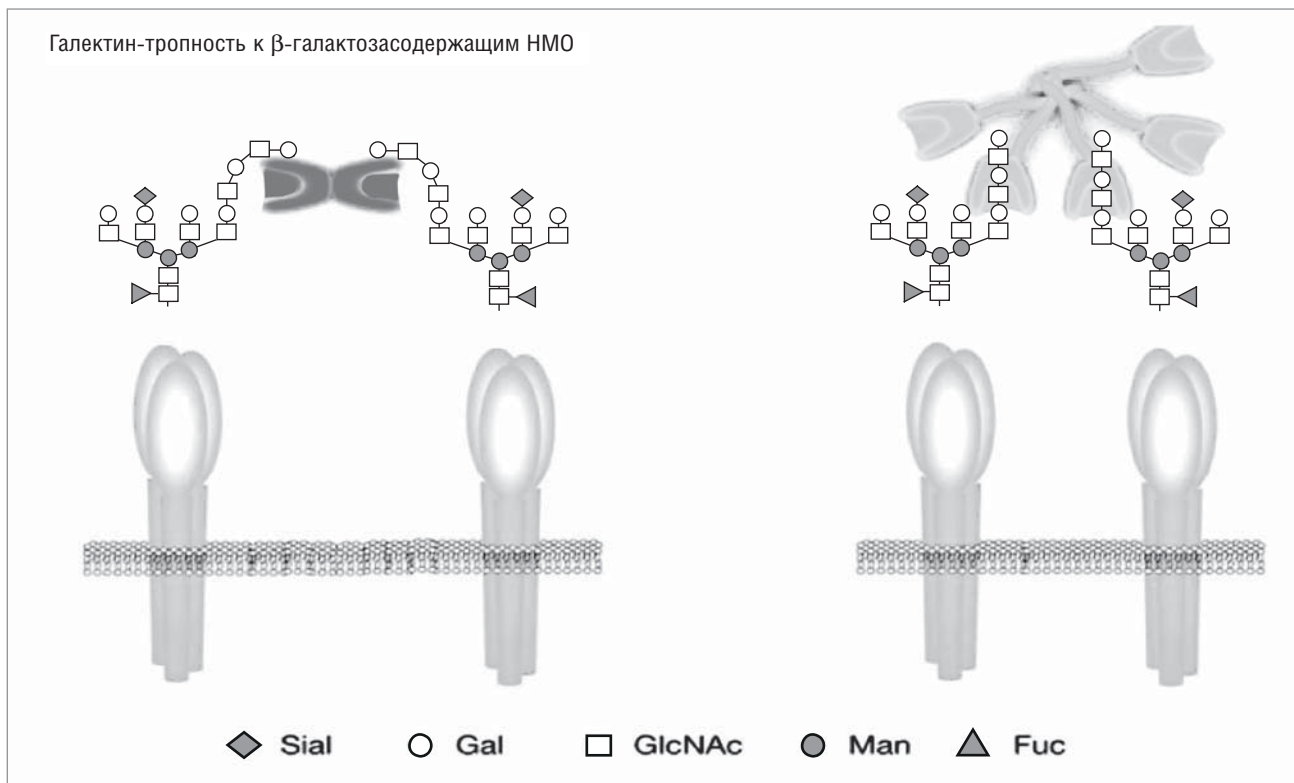


Рис. 6. ОГМ – лиганды лектинов (углевод-узнающие белки). По данным N. Kamili, 2018.

- галектины – β -галактозид связывающие лектины (15 галектинов), экспрессируются в эпителиальных клетках кишечника;
- F-типе лектины – специфичны для фукозы.

Не все виды лектинов описаны и изучены, но для нас особый интерес представляют галектины. Галектины являются рецепторами ОГМ, так они обладают тропностью к β -галактозасодержащим ОГМ. Галектины продуцируются эпителиальными клетками кишечника и имеют 1, 2 или несколько углевод-распознающих доменов (рис. 6). Оценка связи различных галектинов с ОГМ проводилась в оригинальном исследовании A. Noll (2016). Практически все галектины способны связываться с ОГМ в разных отделах ЖКТ ребенка, причем галектины экспрессируются анатомически в тех участках ЖКТ, где они могут лучше контактировать с ОГМ [42].

Каждый галектин выполняет свою функцию и имеет свое влияние на иммунную систему. Галектин 1 влияет на врожденный и приобретенный иммунитет:

- индуцирует толерогенные дендритные клетки;
- подавляет процессы воспаления;
- ингибирует дегрануляцию тучных клеток;
- снижает активность макрофагов;

- индуцирует апоптоз Т-клеток;
- ингибирует секрецию провоспалительных цитокинов;
- селективно удаляет Th1/Th17.

Таким образом, галектин 1 обладает способностью снижать активность воспаления и формировать толерогенное направление иммунного ответа. Галектин 1 стимулирует секрецию факторов роста и противовоспалительных цитокинов клетками эпителия [43].

Галектин 3 также влияет на врожденный и приобретенный иммунитет, но действие его противоположно действию галектина 1 [44]. Галектин 3 увеличивает процессы воспаления, активизирует транспорт нейтрофилов и дегрануляцию тучных клеток, а также увеличивает секрецию провоспалительных цитокинов. Есть галектины, выполняющие разные роли при связи с различными олигосахарами, однако в настоящее время нет возможности оценить все свойства галектинов и направлять их действие в нужную сторону.

Учитывая важную роль ОГМ в создании здоровой КМБ и модуляции иммунитета, в 80-х годах прошлого века были созданы пребиотики (GOS и FOS), которые, как предполагалось, способны селективно стимулировать рост БФ и, возможно, влиять на иммунные функции.

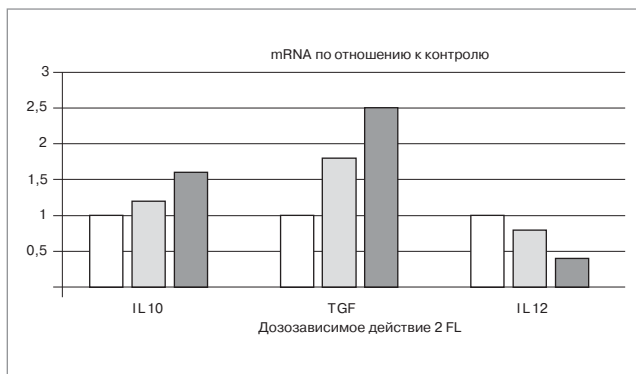


Рис. 7. Экспрессия mRNA про- и противовоспалительных цитокинов

По данным Xiao, 2018

□ — контроль, □ — 0,5% 2FL, ■ — 1% 2FL.

Возникает закономерный вопрос: могут ли пребиотики (GOS/FOS) в детских смесях полностью имитировать защитные свойства ОГМ? Пребиотики, как и ОГМ, стимулируют рост БФ, однако, в отличие от ОГМ, пребиотики способны стимулировать рост и других бактерий [45]. В частности, GOS/FOS стимулируют рост различных бактерий из семейства фирмикутов, бактероидов, также клостридии IV и XVI кластеров. Сравнение защитного действия пребиотиков и ОГМ в отношении вирусной инфекции в экспериментальных условиях показало, что 2'FL достоверно снижает вирусную нагрузку Respiratory Syncytial Virus (RSV) в эпителиальных клетках дыхательных путей при концентрации 50 g/mL, но GOS таким действием не обладает. По-видимому, GOS/FOS, имея относительно простую структуру, мало способны выполнять роль рецепторов, защищающих эпителий кишечника, а их

селективность в отношении стимуляции роста БФ выражена в сравнении с ОГМ в гораздо меньшей степени [46].

ОГМ представляют собой еще один уникальный компонент ГМ. Разные группы ОГМ, благодаря особенностям строения, оказывают различное влияние на формирование здоровья ребенка. ОГМ являются тонкими модуляторами иммунного ответа, способными стимулировать иммунную систему ребенка, улучшать состояние КМБ, защищать от бактериальных и вирусных инфекций, снижать уровень провоспалительных цитокинов. Следует особо отметить наличие дозозависимого действия ОГМ: более высокая дозировка увеличивала благоприятное действие ОГМ (2FL) [47] (рис. 7). Сложность строения, вариабельность состава и структурное разнообразие не позволяют на сегодняшний день полностью воспроизвести состав ОГМ в детских молочных смесях. Тем не менее достигнутые успехи в области технологии производства ингредиентов позволили создать два ОГМ, структурно полностью идентичные тем, что есть в ГМ. Включение в состав современной детской молочной смеси комплекса из двух олигосахаридов (2-фукозиллактоза и лакто-N-неотетраоза) — представителей двух разных групп этих компонентов ГМ в концентрациях, приближенных к их реальному содержанию в ГМ, — можно расценивать как реальный шаг вперед на пути дальнейшего совершенствования состава смесей для ИВ детей — шаг, преследующий цель обеспечения формирования здоровья ребенка в условиях отсутствия ГМ.

Конфликт интересов: авторы статьи являются сотрудниками компании Нестле.

ЛИТЕРАТУРА

- Weirich A, Hoffmann GF. Ernst Moro (1874—1951) — A great pediatric career started at the rise of university-based pediatric research but was curtailed in the shadows of Nazi laws. *Eur. J. Pediatr.* 2005; 164: 599—606. DOI: 10.1007/s00431—005-1703-2.
- Clemens Kunz. Historical Aspects of Human Milk Oligosaccharides. *Adv. Nutr.* 2012; 3 (3): 430S-439S. doi: 10.3945/an.111.001776.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology.* 2012; 22 (9): 1147—1162. doi: 10.1093/glycob/cws074.
- Kunz C, Kuntz S, Rudloff S. Bioactivity of human milk oligosaccharides. In: Moreno FM, Sanz ML, eds. *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity.* 1st ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2014.
- Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum. Dev.* 2015; 91 (11): 619—622. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2015.09.001.
- Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL. Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. *Annu. Rev. Nutr.* 2014; 34: 143—169. doi: 10.1146/annurev-nutr-071813-105721.
- Donovan SM, Comstock SS. Human Milk Oligosaccharides Influence Neonatal Mucosal and Systemic Immunity. *Ann. Nutr. Metab.* 2016; 69 (Suppl. 2): 42—51. doi: 10.1159/000452818.
- Urashima T, Saito T, Nakamura T, Messer M. Oligosaccharides of milk and colostrum in non-human mammals. *Glycoconj. J.* 2001; 18 (5): 357-371. PMID: 11925504.
- Bode L. Human milk oligosaccharides: prebiotics and beyond. *Nutr. Rev.* 2009; 67 (Suppl. 2): S183-191. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00239.x.
- Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T, Padella L, Santoro L, Peila C, Giuliani F, Bertin E, Fabris C, Coppa GV. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics.* 2011; 128: e1520-1531. doi: 10.1542/peds.2011-1206.
- Sean Austin, Carlos A. De Castro, Thierry B net, Yangfeng Hou, Henan Sun, Sagar K. Thakkar, Gerard Vinyes-Pares, Yumei Zhang, Peiyu Wang. Temporal Change of the Content of 10 Oligosaccharides in the Milk of Chinese Urban. *Mothers. Nutrients.* 2016; 8: 346. doi: 10.3390/nu8060346.
- Gnoth MJ, Kunz C, Kinne-Saffran E, Rudloff S. Humanmilk oligosaccharides are minimally digested in vitro. *J. Nutr.* 2000; 130: 3014-3020. DOI: 10.1093/jn/130.12.3014.
- Engfer MB, Stahl B, Finke B, Sawatzki G, Daniel H. Human milk oligosaccharides are resistant to enzymatic hydrolysis in the upper gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 1589-1596. DOI: 10.1093/ajcn/71.6.1589.

14. Sabharwal H, Nilsson B, Gronberg G, Chester MA, Dakour J, Sjoblad S, Lundblad A. Oligosaccharides from feces of preterm infants fed on breast milk. *Arch. Biochem. Biophys.* 1988; 265: 390-406. doi.org/10.1016/0003-9861(88)90142-7.
15. Sabharwal H, Sjoblad S, Lundblad A. Sialylated Oligosaccharides in Human Milk and Feces of Preterm, Full-Term, and Weaning Infants. Article in *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 1991; 12 (4): 480-484. DOI: 10.1097/00005176-199105000-00012.
16. Chaturvedi P, Warren CD, Buescher CR, Pickering LK, Newburg DS. Survival of human milk oligosaccharides in the intestine of infants. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001; 501: 315-323. PMID: 11787697.
17. Coppa GV, Pierani P, Zampini L, Bruni S, Carloni I, Gabrielli O. Characterization of oligosaccharides in milk and feces of breast-fed infants by high-performance anion-exchange chromatography. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2001; 501: 307-314. PMID: 11787695.
18. Albrecht S, Schols HA, van den Heuvel EG, Voragen AG, Gruppen H. CE-LIF-MS n profiling of oligosaccharides in human milk and feces of breast-fed babies. *Electrophoresis.* 2010; 31: 1264-1273. doi: 10.1002/elps.200900646.
19. Albrecht S, Schols HA, van den Heuvel EG, Voragen AG, Gruppen H. Occurrence of oligosaccharides in feces of breastfed babies in their first six months of life and the corresponding breast milk. *Carbohydr. Res.* 2011; 346: 2540-2550. doi: 10.1016/j.carres.2011.08.009.
20. Albrecht S, Schols HA, van Zoeren D, van Lingen RA, Groot Jebbink LJ, van den Heuvel EG, Voragen AG, Gruppen H. Oligosaccharides in feces of breast- and formula-fed babies. *Carbohydr. Res.* 2011; 346: 2173-2181. doi: 10.1016/j.carres.2011.06.034.
21. Dotz V, Adam R, Lochnit G, Schroten H, Kunz C. Neutral oligosaccharides in feces of breastfed and formula-fed infants at different ages. *Glycobiology.* 2016; 26 (12): 1308-1316. DOI: 10.1093/glycob/cww087.
22. Obermeier S, Rudloff S, Pohlentz G, Lentze MJ, Kunz C. Secretion of 13C-labelled oligosaccharides into human milk and infant's urine after an oral [13C] galactose load. *Isotopes Environ Health Stud.* 1999; 35: 119-125. DOI: 10.1080/10256019908234084.
23. Rudloff S, Obermeier S, Borsch C, Pohlentz G, Hartmann R, Brosicke H, Lentze MJ, Kunz C. Incorporation of orally applied (13)C-galactose into milk lactose and oligosaccharides. *Glycobiology.* 2006; 16: 477-487. doi.org/10.1093/glycob/cwj092.
24. Rudloff S, Pohlentz G, Borsch C, Lentze MJ, Kunz C. Urinary excretion of in vivo 13C-labelled milk oligosaccharides in breastfed infants. *Br. J. Nutr.* 2011; 107: 957-963. doi: 10.3945/an.111.001594.
25. Sjogren Y, Tomicic S, Lundber A, Bottcher M, Bjorksten B, Svermark-Ekstrom E, Jenmalm M. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clinical and Experimental Allergy.* 2009; 39: 1842-1851. doi: 10.1111/j.1365-2222.2009.03326.x
26. Sarkar A, Mandal S. Bifidobacteria - insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiological. Res.* 2016; 192: 159-171. Dx.doi.org/10.1016/j.micres.2016.07.001
27. Martin R, Nauta AJ, Ben Amor K, Knippels LM, Knol J, Garssen. Early life: gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial. Microbes.* 2010; 1 (4): 367-382. DOI: 10.3920/BM2010.0027
28. Le Doare K, Holder B, Bassett A, Pannaraj P. Mother's milk: a purposeful contribution to the development of infant microbiota and immunity. *Frontiers in Immunology.* 2018; 9: article 361. DOI: 3389/fimmu.2018.00361
29. Coppa G, Zampini L, Galeazzi T, Facinelli B, Ferrante L, Carpetti R, Grazio G. Human milk oligosaccharides inhibit the adhesion to Caco-2 cells of diarrheal pathogens: *E. coli*, *V. cholerae*, and *Salmonella typhi*. *Ped. Res.* 2006; 59 (3): 377-381. doi: 10.1203/01.pdr.000020080.45593.17
30. Morrow A, Ruiz-Palacios G, Jiang X, Newburg D. Human milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J. Nutr.* 2005; 135: 1304-1307.
31. Hester S, Chen X, Li M, Mpnaco M, Comstock S, Kuhlenschmidt M, Donovan S. Human milk oligosaccharides inhibit rotavirus infectivity in vitro and in acutely infected piglets. *Br. J. of Nutrition.* 2015; 110: 1233-1242. doi: 10.1017/S00071145130000391
32. Musilova S, Modrackova N, Doskocil I, Sveistil R. Influence of human milk oligosaccharides on adherence of bifidobacteria and clostridia to cell lines. *Acta Microbiol. And Immunologica Hungaria.* 2017; 64 (4): 415-422. doi: 10.1556/030.64.2017.029
33. Weichert S, Jennewien S, Hufner E, Weiss C, Borkowski J, Putze J, Schroten H. Bioengineered 2-fucosyllactose and 3-fucosyllactose inhibit the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and enteric pathogens to human intestinal and respiratory cell line. *Nutr. Res.* 2013; 33 (10): 831-838. dx.doi.org/10.1016/j.nutr.2013.07.009
34. Puccio G, Alliet P, Cajozzo C, Jansses E, Coresello G, Sprenger N, Wernimont S, Egli D, Gosoni L, Steenhaut P. Effect of infant formula with human milk oligosaccharides on growth and morbidity: a randomized multicenter trial. *JPGN.* 2017; 64 (4): 624-630. doi: 10.1097/mpg.00000000001520
35. Holscher H, Davis S, Tappenden A. Human milk oligosaccharides influence maturation of human intestinal Caco2Bbe and HT-29 cell lines. *J. of Nutrition.* 2014; 144: 586-591. doi: 10.3945/n.113.189704
36. Holscher H, Bode L, Tappenden A. Human milk oligosaccharides influence intestinal epithelia; cell maturation in vitro. *JPGN.* 2017; 64 (2): 296-301. Doi: 10.1097/MPG.00000000001274
37. Lane J, O'Callaghan J, Carrington S, Hickey R. Transcriptional response of HT-29 intestinal epithelial cells to human and bovine milk oligosaccharides. *Br. J. of Nutrition.* 2013; 110: 2127-2137. Doi: 10.1017/S0007114513001591.
38. Hung T, Suzuki T. Short-chain fatty acids suppress inflammatory reaction in Caco-2 cells and mouse colons. *J. Agric. Food Chem.* 2018; 66: 108-117. DOI: 10.1021/acs.jaf.7b04233
39. Wickramasinghe S, Pacheco A, Lemay D, Mills D. Bifidobacteria grown on human milk oligosaccharides downregulate the expression of inflammation-related genes in Caco-2 cells. *BMC Microbiology.* 2015; 15: 172-184. DOI: 10.1186/s12866-015-0508-3
40. Goering K, Mattiagge B, Oliver J, Wilder J, Barrett E, Buck R. Similar to those who breastfed infants fed a formula containing 2-Fucosyllactose have lower inflammatory cytokines in randomized controlled trial. *J. of Nutr.* 2016; 146: 2559-2566. Doi: 10.3945/n.116.236919
41. He Y, Liu S, Kling D, Leone S, Lawlor N, Huang Y, Feinberg S, Hill D, Newburg D. The human milk oligosaccharide 2-fucosyllactose modulate CD14 expression in human enterocytes, thereby attenuating LPS-induced inflammation. *Gut.* 2016; 55: 33-46. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307544
42. Noll A, Courdine J, Yu Y, Lasanajak Y, Smith D, Cummings R. Galectins are human milk glycan receptors. *Glycobiology.* 2016; 28: 655-669. doi: 10.1093/glycob/cww002
43. De Leila S, Sundblud V, Cerliani J, Guardia C, Estrin D, Vasta G, Rabinovich G. When galectins recognize glycan: from biochemistry to physiology and back again. *Biochemistry.* 2011; 50 (27): 7842-7857. Doi: 10.1021/bi201121m
44. Sundblad V, Quintar A, Morosi L, Niveloni S, Cabanne A, Smecul E, Maurino E, Marino K, Bai J, Maldonado C, Rabinovich G. Galectines in intestinal inflammation: Galectin-1 expression delineates response to treatment in celiac disease patients. *Frontier in Immunology.* 2018; 9: article 379.
45. Dewulf E, Cani P, Sandrine P Claus, Susana Fuentes, Philippe GB Puylaert, Audrey M Neyrinck, Laure B Bindels, Willem M de Vos, Glenn R Gibson, Jean-Paul Thissen, Nathalie M Delzenne. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut.* 2013; 62 (8): 1112-1121. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303304
46. Kulnich A, Liu L. Human milk oligosaccharides: the role in the fine-tuning of innate immune responses. *Carboh. Res.* 2016; 432: 62-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2016.07.009>
47. Ling Xiao, Thea Leusink-Muis, Nienke Kettelarij, Ingrid van Ark, Bernadet Blijenberg Nienke A. Hesen, Bernd Stahl, Saskia A. Overbeek, Johan Garssen, Gert Folkerts, Belinda van't Land. Human Milk Oligosaccharide 2'-Fucosyllactose Improves Innate and Adaptive Immunity in an Influenza-Specific Murine Vaccination Model. *Front. Immunol.* 2018; 9: 452. Published online 2018 Mar 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.00452

ІДЕАЛЬНОЮ ЇЖЕЮ ДЛЯ ГРУДНОЇ ДИТИНИ Є МОЛОКО МАТЕРІ

МИ СТВОРИЛИ СУМІШ ЗАНОВО*

ПЕРША ТА ЄДИНА СУМІШ* З КОМПЛЕКСОМ ДВОХ
ОЛІГОСАХАРИДІВ, СТРУКТУРНО ІДЕНТИЧНИХ
ОЛІГОСАХАРИДАМ ГРУДНОГО МОЛОКА



HM-O

HM-O –
комплекс олігосахаридів,
структурно ідентичних
Олігосахаридам
Грудного Молока

ВАЖЛИВА ІНФОРМАЦІЯ: Оптимальне харчування для матерів та їх дітей протягом перших 1000 днів є основоположним для здоров'я на все життя. Ми вважаємо, що найкращий спосіб годувати дитину - це годувати грудьми. Грудне молоко забезпечує ідеально збалансоване харчування і захист від хвороб для немовлят. Здоровий раціон матері під час вагітності і після пологів допомагає створювати депо поживних речовин, необхідних для здорової вагітності, а також для підготовки і підтримки лактації. Повернутися до грудного вигодовування після його скасування важко, така відмова має соціальні та фінансові наслідки. Необгрунтоване введення часткового годування з пляшечки або інших продуктів і напоїв негативно впливає на годування грудьми. Якщо мати приймає рішення про відмову від грудного вигодовування, важливо навести їй викладені вище аргументи і проінструктувати, як правильно готувати суміш, роблячи особливий акцент на тому, що некип'ячена вода, нестерилізовані пляшки або неправильне розведення суміші можуть призвести до захворювання дитини. Рекомендований вік, з якого дозволяється споживання продуктів, дивитись на індивідуальних етикетках.

* В лінійці продукції компанії Nestlé. ©Власник торговельних марок: Сосьєте де Продажі Нестле С.А., Веве, Швейцарія.

ТІЛЬКИ ДЛЯ МЕДИЧНИХ ПРАЦІВНИКІВ