

УДК 616.34-008.87+612.392.69+579.84+616-053.3+615.37

СОСТОЯНИЕ МИКРОЭКОЛОГИИ КИШЕЧНИКА И АКТИВНОСТЬ МЕСТНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

© Наталья Михайловна Богданова¹, Дмитрий Григорьевич Пеньков²,
Кира Александровна Кравцова¹, Ирина Сергеевна Волкова³

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

² Специализированный Дом ребенка № 3 (психоневрологический) Фрунзенского района. 192289, Санкт-Петербург, Загребский бульвар, д. 42

³ Многопрофильная клиника «Скандинавия» общества с ограниченной ответственностью «АВА-ПЕТЕР». 191186, Санкт-Петербург, Невский пр., д. 22-24, лит. А, пом. 50-н

Контактная информация:

Наталья Михайловна Богданова — к.м.н., доцент кафедры пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми.
E-mail: natasha.bogdanov@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-4516-4194>

Поступила: 21.07.2021

Одобрена: 26.08.2021

Принята к печати: 22.09.2021

Резюме: *Общая информация.* Многочисленные экспериментальные и клинические работы, выполненные в нашей стране и за рубежом, указывают на то, что на постнатальное формирование микробиоты кишечника, а, следовательно, и иммунного ответа, большое влияние оказывает прием антибактериальных препаратов, особенности питания и условия жизни. *Цель* нашей научно-исследовательской работы состояла в том, чтобы изучить в возрастном аспекте состояние микробиоценоза кишечника и мукозального иммунного ответа у детей, имеющих общий социальный статус и проживающих в одинаковых условиях. *Методы.* В исследование вошли 42 респондента, которых с учетом поставленной цели разделили на две группы: первая (n=19) — дети в возрасте от 7 месяцев 16 дней до 1 года 1 месяца 15 дней (средний возраст 10,4±3,75 месяца), вторая (n=23) — дети в возрасте от 1 года 2 месяцев 16 дней до 2 лет 6 месяцев 16 дней (средний возраст 20,2±6,75 месяца). Группы были сопоставимы по перинатальному анамнезу, гендерным различиям и по пищевому рациону. С учетом возраста различия заключались в частоте эпизодов острых инфекционных заболеваний, назначении антибактериальных препаратов, консистенции и объеме блюд. Исследование состава просветной микробиоты толстой кишки проводилось стандартным микробиологическим способом, типирование видов бифидобактерий и лактобацилл — методом ПЦР с использованием комплекта «ДНК-сорб-В-50». Состояние местного иммунного ответа кишечника оценивали по уровню секреторного IgA (sIgA) в копрофильтратах с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). *Результаты.* Установлено, что у детей различных возрастных групп микробиота пищеварительного тракта имеет ряд взаимообусловленных характеристик, а именно сходный спектр представителей комменсальной микробиоты (*Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Clostridium* и др.), и на этом фоне, по мере взросления, — снижение доли нормобиоты (бифидобактерии и лактобациллы) с расширением ее видового состава. Активность кишечного мукозального ответа определяется возрастом и выраженностью дисбиоза. *Выводы.* Безусловно, характер питания и условия жизни определяют количественный и качественный состав микробиома, но процесс взросления, особенно в первые два-три года жизни, сопровождающийся наслоением инфекционных заболеваний и в ряде случаев приемом антибактериальных препаратов, можно рассматривать как ключевой фактор на этапе создания взрослого энтеротипа.

Ключевые слова: *кишечная микробиота; бифидобактерии; лактобациллы; мукозальный иммунный ответ; секреторный иммуноглобулин A (sIgA); дети; грудной возраст; ранний возраст.*

THE STATE OF INTESTINAL MICROECOLOGY AND THE ACTIVITY OF THE LOCAL IMMUNE RESPONSE IN THE AGE ASPECT

© Natalia M. Bogdanova¹, Dmitry G. Penkov², Kira A. Kravtsova¹, Irina S. Volkova³

¹ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

² Specialized Child's House № 3 (Psychoneurological) Frunzensky District. 192289, Saint-Petersburg, Zagreb Boulevard, 42

³ Mnogoprofyl clinic "Scandinavia" of the Limited Liability Company "Ava Peter". 191186, Saint-Petersburg, Nevsky Pr., D.22-24, lit. A, Pom. 50-n

Contact information:

Natalia M. Bogdanova — Ph.D., Associate Professor of the Department of Propedeutics of Children's Diseases with a course of general care for children. E-mail: natasha.bogdanov@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-4516-4194>

Received: 21.07.2021

Revised: 26.08.2021

Accepted: 22.09.2021

Summary: *General information.* Numerous experimental and clinical studies carried out in our country and abroad indicate that the postnatal formation of the intestinal microbiota, and, consequently, the immune response, is greatly influenced by the intake of antibacterial drugs, dietary characteristics and living conditions. *The purpose* of our research work was to study the state of intestinal microbiocenosis and mucosal immune response in children with a common social status and living in the same conditions. *Methods.* The study included 42 respondents who, taking into account the goal, were divided into two groups: the first (n=19) — children aged 7 months, 16 days to 1 year, 1 month, 15 days (average age 10.4 ± 3.75 months), the second (n=23) — children aged 1 year, 2 months, 16 days to 2 years, 6 months, 16 days (average age 20.2 ± 6.75 months). The groups were comparable in perinatal anamnesis, gender differences and practically in the diet. Taking into account age, the differences were in the frequency of episodes of acute infectious diseases, the prescription of antibacterial drugs, the consistency and volume of meals. The study of the composition of the luminal microbiota of the large intestine was carried out using a standard microbiological method, typing of bifidobacteria and lactobacilli species was carried out by PCR using the DNA — sorb-B-50 kit. The state of the local intestinal immune response was assessed by the level of secretory IgA (sIgA) in coprofiltrates using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Results.* It was found that in children of different age groups, the microbiota of the digestive tract has a number of interdependent characteristics, namely, a similar spectrum of representatives of the commensal microbiota (*Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Clostridium*, etc.) and against this background, as they grow older, there is a decrease in the proportion of normobiota (bifidobacteria and lactobacilli) with an expansion of its species composition. The activity of the intestinal mucosal response is determined by age and the severity of dysbiosis. *Conclusion.* Of course, the nature of nutrition and living conditions determine the quantitative and qualitative composition of the microbiome, but the process of growing up, especially in the first two or three years of life, accompanied by the layering of infectious diseases and, in some cases, taking antibacterial drugs, can be considered as a key factor at the stage of creating an adult enterotype.

Key words: *intestinal microbiota; bifidobacteria; lactobacilli; mucosal immune response; secretory immunoglobulin A (sIgA); children; infancy; early age.*

ВВЕДЕНИЕ

Микробиота — это группа микроорганизмов, связанных той или иной степенью филогенетического родства любого ранга, которая достаточно обособлена, что позволяет присвоить ей определенную таксономическую категорию (вид, род, семейство, отряд и т. д.). Микробиота *homo sapiens* включает множество прокариот (бактерий), эукариотических микроорганизмов (таких как грибы и простейшие), архей и вирусов, которые ассоциируются с макроорганизмом, включая кожу, урогенитальный, респираторный и желудочно-кишечный тракты.

По оценкам ученых-биологов, микробиота человека состоит более чем из 30 триллионов микробов, основная часть которых обитает в желудочно-кишечном тракте. При этом около 70% из этих микробов колонизирует толстую кишку [1–3].

На сегодняшний день из такого великого множества микроорганизмов у взрослого человека идентифицировано только около 1000 видов. Это позволяет предположить, что подавляющее большинство таксономических групп микробов остаются нам пока неизвестными. Кроме этого, мы обладаем ограниченными знаниями или вообще не имеем представления о влиянии на здоровье человека многих микроорганизмов, даже среди хорошо изученных [4].

Освоение микромира *homo sapiens* с помощью геномных подходов на протяжении десятилетий, применяя профилирование микробиома на основе филогенетических маркеров и метагеномику, позволило расширить наш кругозор и описать структуру микробиома и его многочисленные связи с различными заболеваниями [5, 6].

Формирование микромира начинается в период внутриутробного развития под влиянием микробиома матки, ротовой полости матери и мекония самого младенца [7–11]. На формирование микробиоты кишечника влияет характер родов [12, 13] и вид вскармливания, особенно в первые дни жизни [14, 15]. После рождения, на протяжении всей жизни индивидуума, микробиом кишечника претерпевает изменения, причем наиболее быстрые его трансформации происходят в раннем детстве [16, 17]. Известно, что общее разнообразие микробиоты кишечника человека неуклонно увеличивается от рождения до 12-летнего возраста, остается относительно стабильным в зрелые годы, а к старости снижается. У взрослых людей 60–70% кишечного микробиома сохраняет свое постоянство. Степень стабильности варьирует в зависимости от типа микроорганизмов [18].

Населяющий нас микромир следует рассматривать как единое целое с нашим организмом, поскольку на протяжении сотен миллионов лет

он эволюционировал вместе с другими органами и системами, в первую очередь — с иммунной. В процессе такого тесного «сожительства» между микроорганизмами кишечника и иммунной системой установилась двунаправленная взаимосвязь. Например, комменсальные бактерии через Toll-подобные рецепторы (TLR) в значительной степени формируют иммунитет, а иммунная система, в свою очередь, стимулирует рост полезных микробов и ограничивает — патогенных. Перекрестные помехи между иммунными клетками и микробиотой задействуют двунаправленную связь и могут обеспечить возникновение негативных реакций [19]. Первые месяцы жизни младенца считаются критическим окном коммуницирования между кишечной микробиотой и иммунной системой [20].

Иммунная система играет важную роль не только в развитии и совершенствовании врожденного и адаптивного иммунитета, но и в поддержании гомеостаза между макроорганизмом и местными микробными сообществами, тем самым обеспечивая сохранение симбиотической природы взаимоотношений между ними [21–23].

Среди многих факторов, участвующих в созревании кишечной иммунной системы в детстве, решающее значение имеют колонизация и создание соответствующей динамичной микробиоты. Доказано, что воздействие микробов-комменсалов на иммунную систему в младенчестве связано с защитой от иммунопосредованных заболеваний в более старшие годы. Протективный эффект комменсальной микробиоты обусловлен, во-первых, ее постоянным влиянием на функцию естественных Т-клеток-киллеров (NKT) [24], во-вторых, способностью Toll-подобных рецепторов (TLRs) и Nod-подобных рецепторов (NLRs) распознавать микробы и микробные компоненты [25].

Дисбаланс кишечной микробиоты, который отмечается у детей первых лет жизни, по-видимому, коррелирует с измененным формированием иммунной системы и хроническим провоспалительным состоянием у взрослых [26–29]. В свою очередь, специфическое действие кишечной иммунной системы младенца ограничивает непрерывное воспалительное повреждение и допускает колонизацию кишечника микроорганизмами. В целом временное окно для соответствующего перекрестного контакта хозяина и микроба и, следовательно, импринтинга иммунного ответа на микробиоту, происходит от рождения до прекращения грудного вскармливания. Период грудного вскармливания приносит значительную трансформацию и диверсификацию кишечной микробиоты [30] и совпадает по времени с «окном повышенного прохождения антигена через кишечник», т.е. с окном толерантности.

Естественное отлучение малыша от груди матери классифицируется как «физиологическое воспаление» с привлечением иммунных клеток в кишечник, опосредованных хемокинами и цитокинами, выделяемых энтероцитами [31, 32]. Рекрутирование (увеличение количества, ускорение нарастания) Т-клеток в слизистой оболочке пищеварительного тракта новорожденных оказывает решающее значение для созревания кишечника и активации иммунной системы, а также для установления оральной толерантности в младенческие годы [33].

Заметные изменения в составе микробиоты, вызванные возрастным отлучением от груди, по-видимому, необходимы для созревания иммунной системы и индукции Treg-клеток, в то время как раннее прекращение грудного вскармливания приводит к патологическим состояниям с повышенной восприимчивостью к аллергии и воспалению кишечной стенки [34].

Микробные и иммуномодулирующие компоненты как на материнском, так и на младенческом уровнях зависят от нескольких факторов, которые считаются положительными или полезными, когда они способствуют росту бактериальных родов, таких как лактобациллы и бифидобактерии. Таким образом, факторы, положительно влияющие на микробиом новорожденного, охватывают вагинальные роды, состояние здоровья матери, длительную продолжительность лактации и отсутствие лечения антибиотиками как в дородовой, так и в послеродовой периоды, прием пробиотиков. Напротив, к негативным предикторам, которые вызывают изменения в микробиоте младенца, относят роды путем кесарева сечения, заболевания матери, особенно инфекции, требующие применения антибиотиков, а также позднее прикладывание к груди матери и ранний перевод новорожденного на искусственное вскармливание [35–40].

В недавно опубликованных работах описаны гендерные различия не только в составе генитальной микробиоты, но и в иммунитете. По мнению авторов, гендерные различия обусловлены тем, что совершенствование микробиоты кишечника происходит под влиянием гормональной среды, определяющей различия между полами. Возникает двусторонний перекрестный диалог между микробиотой и эндокринной системой: бактерии способны сами вырабатывать гормоны (например, серотонин, дофамин и соматостатин), реагировать на гормоны хозяина (например, эстрогены) и регулировать гомеостаз гормонов хозяина (например, путем ингибирования генов, транскрипции пролактина или превращения глюкокортикоидов в андрогены) [41].

Последние клинические данные показывают, что влияние диеты на микробиоту кишечника мо-

жет происходить быстро, и состав таксономических групп микроорганизмов отражает диету человека в любой момент времени, хотя существует много межличностных вариаций [41].

Многочисленные исследования о воздействии пищевых макроэлементов на кишечную микробиоту сообщают об их ассоциации с относительными изменениями численности определенных видов бактерий. Установлено, что современные западные диеты с высокой степенью переработки и стерильности, богатые жирами и белками животного происхождения и обедненные содержанием пищевых волокон, создают в кишечнике идеальные условия, при которых дисбактериоз способствует локализованному воспалению, повышенной проницаемости барьерной стенки кишечника, увеличению выработки липополисахаридов, хронической эндотоксемии и, как следствие, развитию системной воспалительной реакции, являющейся предвестником метаболической дисфункции и многих современных хронических заболеваний [42].

Хорошо известно, что микроорганизмы кишечника подвержены влиянию окружающей среды, но они также отлично приспособляются и к возрастным физиологическим изменениям ребенка.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Цель нашей научно-исследовательской работы (НИР) состояла в том, чтобы изучить в возрастном аспекте состояние кишечного микробиоценоза и мукозального иммунного ответа у детей, имеющих общий социальный статус и проживающих в одинаковых условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

НИР выполнялась в условиях одного из специализированных психоневрологических домов ребенка (ПНДР) г. Санкт-Петербурга, с соблюдением всех этических норм и правил.

В исследование вошли 42 респондента в возрасте от 8 до 30 месяцев. Из них мальчиков — 23 (54,76%), девочек — 19 (45,23%).

При отборе детей в исследование, по возможности, учитывались факторы, способные повлиять на становление и совершенствование как микробиома, так и иммунного ответа на ранних этапах онтогенеза. Однако мы не смогли учесть (ввиду отсутствия данных в представленной медицинской документации) ряд антенатальных причин, а именно: характер рациона будущей матери, ее антропометрические показатели ни до беременности, ни во время беременности, наличие или отсутствие у нее хронических очагов инфекции со стороны полости рта, развернутого соматического, акушерско-гинекологического и урогенитального статуса и указаний на прием каких-либо медикаментозных

препаратов. Образ жизни и социальный статус многих матерей, а также показатели интра- и раннего неонатального периодов детей, оставшихся без попечения родителей, косвенно свидетельствуют о сбое в развитии микробиома и иммунного ответа.

С учетом поставленной цели детей, отобранных в исследование, разделили на две группы. Первая (n=19) — дети в возрасте от 7 месяцев 16 дней до 1 года 1 месяца 15 дней (средний возраст $10,4 \pm 3,75$ месяца). Вторая (n=23) — дети в возрасте от 1 года 2 месяцев 16 дней до 2 лет 6 месяцев 16 дней (средний возраст $20,2 \pm 6,75$ месяца). Группы были сопоставимы по перинатальному анамнезу, гендерным различиям и по пищевому рациону. С учетом возраста различия заключались в частоте эпизодов острых инфекционных заболеваний (респираторных, кишечных), назначении антибактериальных препаратов, консистенции и объеме блюд.

Исследование состава просветной микробиоты толстой кишки проводилось стандартным микробиологическим способом, типирование видов бифидобактерий (ББ) и лактобацилл — методом ПЦР с использованием комплекта «ДНК-сорб-В-50». Реакция амплификации выполнялась на аппарате фирмы PerkinElmers (США) с помощью специального набора фирмы СибЭнзим (Россия) либо Boehringer Mannheim (Германия). Выделение ДНК лактобацилл из кала осуществлялось с использованием набора «ДНК-Экспресс» фирмы «Литех» (г. Москва). Использованы ДНК-праймеры фирмы «Бигль» (г. Санкт-Петербург).

В соответствии с конструированными ДНК-праймерами идентифицировали 5 видов бифидобактерий: *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, и 13 видов лактобацилл: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii* spp., *L. delbrueckii* typus, *L. gassery*, *L. plantarum*, *L. ruminis*, *L. salivarius*, *L. fermentum*. Условно из пяти видов ББ *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve* относят к «младенческим», а *B. adolescentis* — к «взрослым».

Состояние местного иммунного ответа кишечника оценивали по уровню секреторного IgA (sIgA) в копрофильтратах методом иммуноферментного анализа (ИФА), который осуществляли на планшетном спектрофотометре TECAN Sunrise (Австрия) с использованием наборов реагентов фирмы Вектор-Бест (Россия).

Все результаты регистрировали в специально разработанных учетных формах.

Статистическая обработка полученных материалов осуществлялась на персональном компьютере с применением пакета прикладных статистических программ Excel 2007 и Statistica 8.0.

Средние показатели выборки описаны как $M \pm m$ (средняя \pm стандартная ошибка среднего) при нормальном распределении. Если значения перемен-

ных в выборке не подчинялись закону нормального распределения, то описание показателей осуществлялось через медиану и верхний и нижний квартили (Mediana [Lower Quartile; Upper Quartile]).

Для сравнения средних показателей количественных признаков применяли методы непараметрической статистики (Манна-Уитни, Вилкоксона, test-критерий знаков).

Сравнение групп по качественному бинарному признаку проводилось с использованием точного двустороннего критерия Фишера (несвязанные выборки) и критерию Мак-Немара хи-квадрат (случаи парных наблюдений; связанные выборки). Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все пациенты, включенные в НИР, были рождены в срок, в условиях родильного дома. На момент отбора, по данным медицинской документации (форма № 112-1/у-00 «Медицинская карта ребенка, воспитывающегося в доме ребенка»), они имели II–III группу здоровья, находились в периоде клинического благополучия в течение двух недель и более после последнего эпизода острого инфекционного заболевания, не принимали антибактериальные препараты, про-, пре- и синбиотики на протяжении последних трех недель. Обязательное условие зачисления ребенка грудного возраста в исследование — стабильный прием продуктов прикорма не менее трех раз в день на протяжении как минимум двух недель.

Оценка общего состояния кишечного микробиоценоза детей в зависимости от возраста

Анализ фекалий на микробный пейзаж выявил нарушения полостного микробиоценоза у всех респондентов, принятых в исследование. Преимущественно дети имели легкие и умеренные изменения кишечной микробиоты (в первой группе — 94,7%,

во второй — 87%, $p > 0,05$). Однако признаки выраженного дисбиоза достоверно чаще встречались у детей раннего возраста по сравнению с грудными детьми (13% против 5,3%, $p < 0,05$). Данные представлены в таблице 1.

Характер и выраженность диверсификации полостной микробиоты отражены в таблицах 2 и 3.

При оценке частоты встречаемости облигатной микробиоты в кишечном биотопе достоверных различий между группами мы не получили. Удельный вес бифидобактерий преобладал у детей грудного возраста (9,5 [8;11] Ig/KOE против 8,2 [7;11] Ig/KOE, $p < 0,05$). Титр лактобацилл и *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами не имел значимых групповых отличий (6,3 [5;7] Ig/KOE против 5,8 [5;7] Ig/KOE и 8,1 [6;9] Ig/KOE против 7,8 [6;9] Ig/KOE соответственно, $p < 0,05$).

Среди условно-патогенных таксономических групп мы отметили следующие возрастные особенности:

- *E. coli* с измененными ферментативными свойствами, частота встречаемости и средний титр не имели достоверных различий (36,8% против 30,4% и 4,5 [2;6] Ig/KOE против 5,0 [2;6] Ig/KOE соответственно, $p > 0,05$);
- лактозонегативная *E. coli* в фекальных образцах детей грудного возраста встречалась чаще по сравнению с детьми раннего возраста (57,1 и 42,8% соответственно, $p < 0,05$); удельный вес данного вида микроорганизмов в патологическом титре $Ig > 105$ КОЕ/г значительно чаще фиксировали у детей второй группы, чем первой (66,7% против 50,0% соответственно, $p < 0,05$), что обеспечило более высокий средний титр *E. coli* lactosoneg. (5,2 [2;6] Ig/KOE против 4,3 [2;6] Ig/KOE соответственно, $p < 0,05$) у детей этой же группы;
- *E. coli* gemolyticus и *Staphyl. aureus* у детей второй группы доминировали как по частоте обнаружения (57,2% против 42,9 и 69,6% против 57,9% соответственно, $p < 0,05$), так и по их

Таблица 1. Состояние просветной микробиоты толстого кишечника обследованных детей

Table 1. The state of the luminal microbiota of the large intestine of the examined children

Дисбиотические нарушения / Dysbiotic disorders	Первая группа / The first group		Вторая группа / The second group		p
	n=19	%	n=23	%	
Незначительные (дисбиоз I степени) / Minor (grade I dysbiosis)	10	52,6	9	39,2	$p > 0,05$
Умеренные (дисбиоз II степени) / Moderate (grade II dysbiosis)	8	42,1	11	47,8	$p > 0,05$
Выраженные (дисбиоз III степени) / Severe (grade III dysbiosis)	1	5,3	3	13,0	$p < 0,05$

Таблица 2. Частота встречаемости представителей полости микробиоты у обследованных детей

Table 2. The frequency of occurrence of representatives of cavity microbiota in examined children

Представители полости микробиоты / Representatives of the cavity microbiota	Первая группа, n=19 / The first group, n=19		Вторая группа, n=23 / The second group, n=23	
	n	%	n	%
<i>Bifidumbacterium</i>	19	100,0	23	100,0
Снижение содержания <i>Bifidumbacterium</i> , lg<10 ⁹ КОЕ/g Decrease in <i>Bifidumbacterium</i> content, lg<10 ⁹ КОЕ/g	6	31,6	9	39,1
<i>Lactobacillus</i>	19	100	23	100
Снижение содержания <i>Lactobacillus</i> , lg<10 ⁶ КОЕ/g / Decreased content of <i>Lactobacillus</i> lg<10 ⁶ КОЕ/g	7	36,8	8	34,8
<i>E. coli</i> типичная / <i>E. coli</i> typical	12	63,2	16	69,6
Отсутствие <i>E. coli</i> типичной / Absence of <i>E. coli</i> typical	7	36,8	7	30,4
Увеличение содержания <i>E. coli</i> типичной, lg>10 ⁸ КОЕ/g / Increase in <i>E. coli</i> content typical, lg>10 ⁸ КОЕ/g	3	25,0*	1	6,3*
<i>E. coli</i> с измененными ферментативными свойствами / <i>E. coli</i> with altered enzymatic properties	7	36,8	7	30,4
<i>E. coli</i> lactosoneg.	4	57,1*	3	42,8*
Увеличение содержания <i>E. coli</i> lactosoneg., lg>10 ⁵ КОЕ/g	2	50,0*	2	66,7*
<i>E. coli</i> gemolyticus	3	42,9*	4	57,2*
<i>Staphyl. aureus</i>	11	57,9*	16	69,6*
Увеличение содержания <i>Staphyl. aureus</i> lg>10 ⁴ КОЕ/g / Increased content of <i>E. coli</i> lactosoneg., lg>10 ⁵ КОЕ/g	2	18,2*	6	37,5*
<i>Staphyl. saprophyt.</i>	13	68,4	17	73,9
Дрожжевые грибы рода <i>Candida</i> / Yeast fungi of the genus <i>Candida</i>	7	36,8*	13	56,2*
Увеличение содержания дрожжевых грибов рода <i>Candida</i> , lg>10 ⁴ КОЕ/g / Increase in the content of yeast fungi of the genus <i>Candida</i> lg>10 ⁴ КОЕ/g	4	57,1	6	46,2
<i>Klebsiella</i>	8	42,1	11	47,8
Увеличение содержания <i>Klebsiella</i> , lg>10 ² КОЕ/g / Increased content of <i>Klebsiella</i> , lg>10 ² КОЕ/g	3	37,5*	6	54,5*
<i>Protey</i>	2	10,5	3	13
<i>Citrobacter</i>	0	-	1	4,3
<i>Enterobacter</i>	2	10,5*	5	21,7*
<i>Clostridium</i>	12	63,2	16	69,6
Увеличение содержания <i>Clostridium</i> , lg>10 ⁵ КОЕ/g / Increase in <i>Clostridium</i> lg>10 ⁵ КОЕ/g	4	33,3	7	43,8
Ассоциации УПМ / UPM Association	1	5,2*	5	21,7*

Различия между * и * достоверны (p<0,05)

Таблица 3. Качественная характеристика полостной микробиоты у обследованных детей

Table 3. Qualitative characteristics of the cavity microbiota in the examined children

Представители полостной микробиоты / Representatives of the cavity microbiota	Первая группа, n=19 / The first group, n=19			Вторая группа, n=23 / The second group, n=23		
	медиана	Lower Quartile	Upper Quartile	медиана	Lower Quartile	Upper Quartile
<i>Bifidumbacterium</i>	9,5*	8	11	8,2*	7	11
<i>Lactobacillus</i>	6,3	5	7	5,8	5	7
<i>E. coli</i> типичная / <i>E. coli</i> typical	8,1	6	9	7,8	6	9
<i>E. coli</i> с измененными ферментативными свойствами / <i>E. coli</i> with altered enzymatic properties	4,5	2	6	5,0	2	6
<i>E.coli lactosoneg.</i>	4,3*	2	6	5,2*	2	6
<i>E. coli gemolyticus</i>	4,5*	2	6	5,3*	3	6
<i>Staphyl. aureus</i>	2,8*	2	6	4,3*	2	6
<i>Staphyl. saprophyticus</i>	3,0	1	5	2,6	1	3
Дрожжевые грибы рода <i>Candida</i> / Yeast fungi of the genus <i>Candida</i>	3,4	2	5	3,5	2	5
<i>Klebsiella</i>	3,2	2	4	3,7	2	6
<i>Protey</i>	2,5	2	3	2,6	2	4
<i>Citrobacter</i>	0	0	0	2	0	2
<i>Enterobacter</i>	3,0	2	4	3,2	2	5
<i>Clostridium</i>	3,8*	2	6	5,2*	2	6

Различия между * и * достоверны (p<0,05).

удельному весу (5,3 [3;6] Ig/KOE против 4,5 [2;6] Ig/KOE и 4,3 [2;6] Ig/KOE против 2,8 [2;6] Ig/KOE соответственно, p<0,05);

- дрожжевые грибы рода *Candida* чаще встречались у детей раннего возраста (56,2% против 36,8%, p<0,05), в то время как их пролиферативный рост в титре Ig>10⁴ КОЕ/g отмечен у большинства детей грудного возраста (57,1% против 46,2%, p>0,05), с практически одинаковым средним титром в обеих группах (3,4 [2;5] Ig/KOE против 3,5 [2;5] Ig/KOE соответственно, p>0,05);
- *Klebsiella* — различий по частоте встречаемости и среднему титру (42,1 и 47,8%, 3,2 [2;4] Ig/KOE и 3,7 [2;6] Ig/KOE соответственно, p>0,05) в группах не зафиксировано; в диагностическом титре Ig>10² КОЕ/g высеивание чаще было у детей второй группы (54,5% против 37,5%, p<0,05);
- общее количество условно-патогенных микроорганизмов (*Protey*, *Citrobacter*, *Enterobacter*) несколько чаще встречалось у детей раннего возраста по сравнению с грудным (39,1% против 21%, p>0,05) и преимущественно за счет *Enterobacter*; доля данных бактерий от общей

микробиоты биотопа у детей раннего возраста была статистически выше по сравнению с детьми грудного возраста (2,6 [0;5] Ig/KOE против 1,8 [0;4] Ig/KOE соответственно, p<0,05);

- кишечных *Clostridium* как представителей нормальной комменсальной микробиоты имели почти 2/3 обследованных детей (в первой группе — 63,2%, во второй — 69,6%, p>0,05); при этом удельный вес данных микроорганизмов в титре Ig>10⁵ КОЕ/g несколько чаще фиксировали у детей второй группы (43,8% против 33,3%, p>0,05) с достоверно более высоким средним титром (5,2 [2;6] Ig/KOE против 3,8 [2;6] Ig/KOE соответственно, p<0,05).

Таким образом, у детей грудного возраста в составе полостного микробиома преобладают бифидобактерии, в то время как у детей раннего возраста постепенно начинает доминировать условно-патогенная микробиота.

Анализ видоспецифичности бифидобактерий и лактобацилл у обследованных детей

Анализ видового состава бифидобактерий (ББ) показал, что практически у всех детей грудного

Таблица 4. Частота встречаемости типированных видов бифидобактерий в зависимости от возраста

Table 4. Frequency of occurrence of typed species of bifidobacteria depending on age

Виды бифидобактерий / Types of bifidobacteria	Первая группа — дети грудного возраста, n=19 / The first group — infants, n=19		Вторая группа — дети раннего возраста, n=23 / The second group — young children, n=23		p
	n	%	n	%	
<i>B. bifidum</i>	16	84,2	12	52,2	p<0,05
<i>B. longum</i>	17	89,5	17	73,9	p>0,05
<i>B. infantis</i>	7	36,8	7	30,4	p>0,05
<i>B. breve</i>	18	94,7	16	69,6	p>0,05
<i>B. adolescentis</i>	5	26,3	16	69,6	p<0,05

Таблица 5. Распределение видового многообразия бифидобактерий с учетом возраста детей

Table 5. Distribution of species diversity of bifidobacteria, taking into account the age of children

Сочетание видов бифидобактерий (ББ) / Combination of species of bifidobacteria (BB)	Первая группа — дети грудного возраста, n=19 / The first group — infants, n=19		Вторая группа — дети ранне- го возраста, n=23 / The second group — young children, n=23		p
	n	%	n	%	
Изолированное выделение младенческих видов ББ / Isolation of infant BB species	14	73,7	7	30,4	p<0,05
Сочетание младенческих и взрослых видов ББ / Combination of infant and adult BB types	5	26,3	16	69,6	p<0,05

возраста встречаются три вида представителей младенческих ББ, а именно: *B. bifidum*, *B. longum* и *B. breve* (84,2, 89,5 и 94,7% соответственно). У детей раннего возраста данные виды ББ также регистрировались, но несколько реже (50,2, 73,3 и 69,6% соответственно). У каждого третьего ребенка как в первой, так и во второй группах в структуре общих ББ присутствовали *B. infantis* (36,8 и 30,4% соответственно).

Доля *B. bifidum* у детей грудного возраста была достоверно выше, чем у детей раннего возраста (84,2% против 50,2% соответственно, p<0,05), у которых доминировали *B. adolescentis* (69,6% против 26,3% соответственно, p<0,05) (табл. 4).

На основании данных молекулярного анализа с учетом возраста обследованных детей мы установили с высокой степенью достоверности, что существует определенная возрастная градация в структуре ББ, а именно: у детей грудного возраста видовое многообразие ББ представлено преимущественно младенческими видами ББ, по мере взросления (ранний возраст) видовой состав ББ претерпевает некоторую трансформацию и уже имеет смешанное представительство (младенче-

ские и взрослые виды). Данные представлены в таблице 5.

Оценивая видовой состав лактобацилл, мы отметили, что количество видов данных микроорганизмов у детей практически не зависит от возраста: грудной возраст — 11 видов, ранний возраст — 12 видов.

Как и среди ББ, лактобациллы у детей грудного возраста определяются несколько чаще, чем у детей раннего.

Основные виды лактобацилл у детей грудного и раннего возраста: *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii typus*, *L. delbrueckii spp.*, *L. fermentum*, которые у первых идентифицировались несколько чаще, чем у вторых (42,1% против 30,4%; 31,6% против 21,8%; 63,2% против 43,5%; 42,1% против 26,0% и 31,6% против 26% соответственно, p>0,05), как и остальные типизируемые виды лактобацилл.

Мы выявили, что такие виды лактобацилл, как *L. casei* и *L. crispatus* доминировали у детей грудного возраста по сравнению с детьми раннего возраста (31,6% против 13,0% и 31,6% против 8,7% соответственно, p<0,05). Данные о частоте встречаемости различных видов лактобацилл у обследованных детей отражены в таблице 6.

Таблица 6. Частота встречаемости типированных видов лактобацилл в зависимости от возраста

Table 6. Frequency of occurrence of typed species of lactobacilli depending on age

Виды лактобацилл / Types of lactobacillus	Первая группа — дети грудного возраста, n=19 / The first group — infants, n=19		Вторая группа — дети раннего возраста, n=23 / The second group is young children, n=23		p
	n	%	n	%	
<i>L. acidophilus</i>	8	42,1	7	30,4	p>0,05
<i>L. casei</i>	6	31,6*	3	13,0*	p<0,05
<i>L. paracasei</i>	6	31,6	5	21,8	p>0,05
<i>L. crispatus</i>	6	31,6*	2	8,7*	p<0,05
<i>L. delbrueckii</i> spp.	8	42,1	6	26,0	p>0,05
<i>L. delbrueckii</i> typus	12	63,2	10	43,5	p>0,05
<i>L. gassery</i>	0	0	1	4,3	p>0,05
<i>L. plantarum</i>	2	10,5	1	4,3	p>0,05
<i>L. reuteri</i>	3	15,8	5	21,8	p>0,05
<i>L. rhamnosus</i>	2	10,5	2	8,7	p>0,05
<i>L. ruminis</i>	1	5,3	0	0	p>0,05
<i>L. salivarius</i>	0	0	1	4,3	p>0,05
<i>L. fermentum</i>	6	31,6	6	26,0	p>0,05

Таблица 7. Оценка состояния местного иммунного ответа слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта у детей, включенных в исследование в зависимости от возраста

Table 7. Assessment of the state of the local immune response of the mucous membranes of the gastrointestinal tract in children included in the study, depending on age

Группы детей в зависимости от уровня sIgA в копрофильтате / Groups of children depending on the level of sIgA in the coprofiltrate	Первая группа / The first group		Вторая группа / The second group		p
	n=19	%	n=23	%	
Количество детей, имеющих возрастной референс- ный показатель sIgA в копрофильтате 2,46–8,66 мг/л / The number of children with the age reference index sIgA in the coprofiltrate is 2.46–8.66 mg/l	2	10,5	5	21,7	p>0,05
Количество детей, у которых sIgA в копрофильтате выше 8,66 мг/л / The number of children who have sIgA in the coprofiltrate is higher than 8.66 mg/l	13	68,4	10	43,5	p<0,05
Количество детей, у которых sIgA в копрофильтате ниже 2,46 мг/л / The number of children who have sIgA in the coprofiltrate is below 2.46 mg/l	4	21,0	8	34,8	p>0,05
Средний уровень sIgA в копрофильтате / The average level of sIgA in the coprofilter	54,36±9,5 мг/л		34,28±13 мг/л		p<0,043

Таким образом, в результате проведенного молекулярного анализа по типированию ББ и лактобацилл нам удалось обнаружить возрастные изменения в структуре данных микроорганизмов: по мере взросления частота встречаемости как ББ, так и лактобацилл уменьшается, при этом происходит диверсификация (расширение) их видового состава.

Оценка местного иммунного ответа GALT-системы детей в зависимости от возраста

При определении секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в копрофильтратах методом иммуноферментного анализа (ИФА) обращало на себя внимание, что дети грудного возраста значительно чаще демонстрировали более высокий показатель мукозального иммунного ответа по сравнению с детьми раннего возраста (68,4% против 43,5%, $p < 0,05$). Количество детей в группах, у которых уровень sIgA находился в пределах референсных значений (2,46–8,66 мг/л) или был ниже возрастной нормы, не имело достоверных различий.

Средний уровень sIgA в копрофильтратах у детей первой группы был достоверно выше, чем у детей второй (54,36±9,5 мг/л и 34,28±13 мг/л соответственно, $p < 0,043$), при этом как в первой, так и во второй группах он существенно превышал референсные значения. Данные представлены в таблице 7.

Состояние микроэкологии кишечника и активность местного иммунного ответа у обследованных детей

Хорошо известно, что мукозальный иммунный ответ кишечника напрямую связан с состоянием его микробиома, поэтому в своей работе мы оценили взаимосвязь активности местного иммунного ответа GALT-системы в зависимости от степени выраженности дисбиоза толстой кишки и возраста. В статистический анализ вошли дети с легкими и

умеренными изменениями просветной микробиоты. Частота встречаемости данных нарушений в группах не имела достоверных различий.

Рассмотрев полученные результаты, были сделаны следующие выводы:

- у детей грудного возраста, независимо от тяжести дисбиоза, активность мукозального иммунного ответа выше, чем у детей ранней возрастной группы;
- независимо от возраста, умеренные нарушения кишечного микробиоценоза (дисбиоз II степени) характеризуются более высокой активностью иммунного ответа по сравнению с легкими (табл. 8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе нашего исследования данные согласуются с выводами отечественных и зарубежных авторов о том, что имеются возрастные особенности в качественном и количественном составе кишечной микробиоты, а также активности мукозального иммунного ответа. Установлено, что после завершения периода грудного возраста микробиоценоз кишечника становится приближенным по своему составу к микромиру взрослого человека, с примерно равным соотношением *Firmicutes* и *Bacteroidetes* [41, 42]. Кроме этого, и внутри рода могут существовать определенные возрастные трансформации. Например, если у детей первого года жизни даже при условии искусственного вскармливания многообразие бифидобактерий представлено младенческими видами, то у детей раннего возраста оно имеет уже смешанное представительство (младенческие и взрослые виды).

При легком и умеренном нарушении микробиоценоза, вне зависимости от возраста, происходит активация иммунного ответа, которая проявляется в индуцировании синтеза sIgA как основного маркера мукозального иммунитета. Связано это с тем,

Таблица 8. Состояние микроэкологии кишечника и активность кишечного мукозального иммунного ответа

Table 8. The state of intestinal microecology and the activity of the intestinal mucosal immune response

Показатель sIgA / sIgA indicator	Первая группа — дети грудного возраста (n=19) / The first group — infants (n=19)		Вторая группа — дети раннего возраста (n=23) / The second group — young children (n=23)	
	Дисбиоз I степени / Dysbiosis of the I degree n=10	Дисбиоз II степени / Dysbiosis of the II degree n=8	Дисбиоз I степени / Dysbiosis of the I degree n=9	Дисбиоз II степени / Dysbiosis of the II degree n=11
Средний уровень sIgA в копрофильтратах / The average level of sIgA in coprofiltrates	43,6±10,4*	62,2±21,3	20,1±18,2*	48,6±16,4

Различия между * и * достоверны ($p < 0,05$).

что комменсальная микробиота оказывает многократное воздействие на иммунную систему хозяина. Комменсалы стимулируют защитные функции эпителиальных клеток, такие как секреция слизи и антимикробные пептиды, рекрутируют общий набор иммунных клеток в слизистую оболочку, а также генерируют и созревание организованных кишечного-ассоциированных лимфоидных тканей [43, 44]. Недавние исследования выявили наличие комменсальных видов с иммуномодулирующими эффектами. Эти эффекты специфичны для отдельных бактерий или групп бактерий. Они включают обратимые изменения в дифференцировке или эффекторной функции подмножеств иммунных клеток хозяина, то есть это еще раз доказывает, что состав микробиоты может влиять на тип и устойчивость иммунных реакций хозяина [44, 45].

Таким образом, более глубокое понимание механизма формирования кишечной микробиоты у детей позволит разработать эффективные методы профилактики и коррекции микробиологических нарушений у ребенка и связанных с ними заболеваний в разные периоды жизни.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported

ЛИТЕРАТУРА

1. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*; 2016; 14: e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
2. Mueller N.T., Bakacs E., Combellick J. et al. The infant microbiome development: Mom matters. *Trends in Molecular Medicine*; 2015; 21: 109–117. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.12.002.
3. Бельмер С.В., Хавкин А.И., Алешина Е.О. и др. Кишечная микробиота у детей: норма, нарушения, коррекция. Под редакцией С.В. Бельмера и А.И. Хавкина. Второе издание, переработанное и дополненное. М.; 2020.
4. Butel M.J., Waligora-Dupriet A.J., Wydau-Dematteis S. The developing gut microbiota and its consequences for health. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*; 2018; 9: 590–7. DOI: 10.1017/S2040174418000119.
5. Qin J., Li R., Raes J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*; 2010; 464: 59–65. DOI: 10.1038/nature08821.
6. Huttenhower C., Gevers D., Knight R. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*; 2012; 486: 207–214. DOI: 10.1038/nature11234.
7. Selma-Royo M., Tarrazo M., Garcia-Mantrana, I. et al. Shaping Microbiota During the First 1000 Days of Life. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1125(3–24): 28.
8. Barthow C., Wickens K., Stanley T. et al. The Probiotics in Pregnancy Study (PiP Study): Rationale and design of a double-blind randomised controlled trial to improve maternal health during pregnancy and prevent infant eczema and allergy. *BMC Pregnancy Childbirth*; 2016; 16, 1–14.
9. Гурова М.М., Новикова В.П. Эволюционные аспекты неонатальной гастроэнтерологии. Часть 2. Формирование кишечного микробиома и значение фактора питания в первые месяцы жизни. *Вопросы детской диетологии*. 2018; 16(1): 34–41. DOI: 10.20953/1727-5784-2018-1-34-41.
10. Гурова М.М., Новикова В.П. Эволюционные аспекты неонатальной гастроэнтерологии. В книге: Неонатальная гастроэнтерология. Алешина Е.И., Бельмер С.В., Бехтерева М.К. и др. СПб.; 2020: 31–45.
11. Богданова Н.М., Прокопьева Н.Э. Особенности формирования полостной микробиоты у детей первого полугодия жизни, рожденных от матерей с аллергопатологией. В сборнике: Пищевая непереносимость у детей. Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики и диетотерапии. Сборник трудов. 2018: 213–20.
12. Бойцова Е.А., Косенкова Т.В., Новикова В.П. и др. Кесарево сечение как эпигенетический фактор формирования пищевой аллергии у детей. *Вопросы практической педиатрии*. 2018; 13 (4): 65–71. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-4-65-71.
13. Булатова Е.М., Шабалов А.М., Богданова Н.М. и др. Особенности видового состава бифидобактерий кишечной микробиоты и профиль микробного метаболизма у детей первого полугодия жизни, рожденных естественным и оперативным путем. *Педиатр*. 2018; 9 (1): 11–6. DOI: 10.17816/PED9111-16.
14. Березкина Е.Н., Новикова В.П., Завьялова А.Н. и др. Питание беременных женщин и кормящих матерей в перинатальном центре: субъективные и объективные оценки. *Лечащий врач*. 2020; 6: 38–43. DOI: 10.26295/OS.2020.39.39.007.
15. Березкина Е.Н., Иванов Д.О., Новикова В.П. и др. Характер вскармливания новорожденных в перинатальном центре. *Трудности первых дней. Педиатр*. 2020; 11(4): 5–13. DOI: 10.17816/PED1145-13.
16. Tanaka M., Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol. Int*; 2017; 66: 515–22. 20.
17. Bunyavanich, S., Berin M.C. Food allergy and the microbiome: Current understandings and future directions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 144: 1468–77.

18. Lynch S.V. Gut microbiota and allergic disease: New insights. *Ann. Am. Thorac. Soc*; 2016; 13: S51–4.
19. Hooper L.V., Littman D.R., Macpherson A.J. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012; 336: 1268–73. DOI: 10.1126/science.1223490.
20. Tsabouri S., Priftis K.N., Chaliasos N., Siamopoulou A. Modulation of gut microbiota downregulates the development of food allergy in infancy. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2014; 42: 69–77.
21. Francino M.P. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens*; 2014; 3: 769–90. DOI: 10.3390/pathogens3030769.
22. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*; 2014; 157: 121–41. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
23. Zheng D., Liwinski T., Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*. 2020; 30: 492–506. DOI: 10.1038/s41422-020-0332-7.
24. Olszak T., An D., Zeissig S. et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*; 2012; 336: 489–93. DOI: 10.1126/science.1219328.
25. Flier A., Krediet T.G. Innate immunity: toll-like receptors and some more. A brief history, basic organization and relevance for the human newborn. *Neonatology*. 2007; 92: 145–57. DOI: 10.1159/000102054.
26. Nyangahu D.D., Jaspan H.B. Influence of maternal microbiota during pregnancy on infant immunity. *Clin Exp Immunol*; 2019; 198: 47–56.
27. Иванов Д.О., Успенский Ю.П., Гурова М.М. и др. Микробиота, интеллект человека и метаболический синдром: патогенетические параллели. *University Therapeutic Journal*. 2020; 2(1): 16.
28. Гурова М.М., Романова Т.А., Попова В.С. Роль кишечной микробиоты в формировании пищевой непереносимости. *Медицина: теория и практика*. 2019; 4(1): 1229–32.
29. Карпеева Ю.С., Новикова В.П., Хавкин А.И. и др. Микробиота и болезни человека: возможности диетической коррекции. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020; 65(5): 116–125. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-116-125.
30. Al Nabhani Z., Eberl G. Imprinting of the immune system by the microbiota early in life. *Mucosal Immunol*. 2020; 13: 183–9. DOI: 10.1038/s41385-020-0257-y.
31. Fiocchi C. What is “physiological” intestinal inflammation and how does it differ from “pathological” inflammation? *Inflamm Bowel Dis*. 2008; 14 (Suppl. 2): S77–78. DOI: 10.1002/ibd.20618.
32. Weström B., Sureda E.A., Pierzynowska K. et al. The Immature Gut Barrier and Its Importance in Establishing Immunity in Newborn Mammals. *Front Immunol*. 2020; 11: 1153. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01153.
33. Perez-Cano F.J., Castellote C., Gonzalez-Castro A.M. et al. Developmental changes in intraepithelial T lymphocytes and NK cells in the small intestine of neonatal rats. *Pediatr Res*; 2005; 58: 885–91. DOI: 10.1203/01.pdr.0000182187.88505.49.
34. Al Nabhani Z., Dulauroy S., Marques R. et al. A weaning reaction to microbiota is required for resistance to immunopathologies in the adult. *Immunity*. 2019; 50: 1276–88. e1275. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.02.014.
35. Gomez-Gallego C., Garcia-Mantrana I., Salminen S., Collado M.C. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016; 21: 400–5. DOI: 10.1016/j.siny.2016.05.003.
36. Tamburini S., Shen N., Wu H.C., Clemente J.C. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med*. 2016; 22: 713–22. DOI: 10.1038/nm.4142.
37. Ximenez C., Torres J. Development of microbiota in infants and its role in maturation of gut mucosa and immune system. *Arch Med Res*. 2017; 48: 666–80. DOI: 10.1016/j.arcmed.2017.11.007.
38. Nogacka A.M., Salazar N., Arboleya S. et al. Early microbiota, antibiotics and health. *Cell Mol Life Sci*. 2018; 75: 83–91. DOI: 10.1007/s00018-017-2670-2.
39. Rizzetto L., Fava F., Tuohy K.M., Selmi C. Connecting the immune system, systemic chronic inflammation and the gut microbiome: The role of sex. *J Autoimmun*; 2018; 92: 12–34. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.05.008.
40. Гурова М.М., Хавкин А.И. Место метабиотиков в коррекции дисбиоза кишечника. *Вопросы практической педиатрии*. 2018; 13(2): 70–6. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-2-70-76.
41. Barber T.M., Valsamakis G., Mastorakos G. et al. Dietary Influences on the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(7): 3502.
42. Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B. et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. 2007; 5(7): 177. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177.
43. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; 444 (7122): 1022–5. DOI: 10.1038/4441022a.
44. Macpherson A.J., and Harris N.L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol*. 2004; 4, 478–85.
45. Hooper L.V., Macpherson A.J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat. Rev. Immunol*. 2010; 10: 159–69.
46. Vivier E., Raulet D.H., Moretta A. et al. Innate or adaptive immunity. The example of natural killer cells. *Science*. 2011; 331(6013): 44–9. DOI: 10.1126/science.1198.

REFERENCES

1. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*; 2016; 14: e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
2. Mueller N.T., Bakacs E., Combellick J. et al. The infant microbiome development: Mom matters. *Trends in Molecular Medicine*; 2015; 21: 109–117. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.12.002.
3. Bel'mer S.V., Khavkin A.I., Aleshina Ye.O. i dr. Kishechnaya mikrobiota u detey: norma, narusheniya, korrektsiya. [Intestinal microbiota in children: norm, violations, correction]. Pod redaktsiyey S.V. Bel'mera i A.I. Khavkina. Vtoroye izdaniye, pererabotannoye i dopolnennoye. Moskva; 2020. (in Russian)
4. Butel M.J., Waligora-Dupriet A.J., Wydau-Dematteis S. The developing gut microbiota and its consequences for health. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*; 2018; 9: 590–7. DOI: 10.1017/S2040174418000119.
5. Qin J., Li R., Raes J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*; 2010; 464: 59–65. DOI: 10.1038/nature08821.
6. Huttenhower C., Gevers D., Knight R. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*; 2012; 486: 207–214. DOI: 10.1038/nature11234.
7. Selma-Royo M., Tarrazo, M., Garcia-Mantrana, I. et al. Shaping Microbiota During the First 1000 Days of Life. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1125(3–24): 28.
8. Barthow C., Wickens K., Stanley T. et al. The Probiotics in Pregnancy Study (PiP Study): Rationale and design of a double-blind randomised controlled trial to improve maternal health during pregnancy and prevent infant eczema and allergy. *BMC Pregnancy Childbirth*; 2016; 16, 1–14.
9. Gurova M.M., Novikova V.P. Evolyutsionnyye aspekty neonatal'noy gastroenterologii. [Evolutionary aspects of neonatal gastroenterology]. Chast' 2. Formirovaniye kishhechnogo mikrobioma i znacheniye faktora pitaniya v pervyye mesyatsy zhizni. *Voprosy detskoy diyetologii.* 2018; 16(1): 34–41. DOI: 10.20953/1727-5784-2018-1-34-41. (in Russian)
10. Gurova M.M., Novikova V.P. Evolyutsionnyye aspekty neonatal'noy gastroenterologii. [Evolutionary aspects of neonatal gastroenterology]. V knige: Neonatal'naya gastroenterologiya. Aleshina Ye.I., Bel'mer S.V., Bekhtereva M.K. i dr. Sankt-Peterburg; 2020: 31–45. (in Russian)
11. Bogdanova N.M., Prkop'yeva N.E. Osobennosti formirovaniya polostnoy mikrobioty u detey pervogo polugodiya zhizni, rozhdennykh ot materey s allergopatologiyey. [Features of the formation of a strip microbiota in children of the first half of the year of life born from mothers with allergopathology]. V sbornike: Pishchevaya neperenosimost' u detey. *Sovremennyye aspekty diagnostiki, lecheniya, profilaktiki i diyetoterapii.* Sbornik trudov. 2018: 213–20. (in Russian)
12. Boytsova Ye.A., Kosenkova T.V., Novikova V.P. i dr. Kesarevo secheniye kak epigeneticheskiy faktor formirovaniya pishchevoy allergii u detey. [Cesarean section as an epigenetic factor in the formation of food allergies in children]. *Voprosy prakticheskoy pediatrii.* 2018; 13 (4): 65–71. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-4-65-71. (in Russian)
13. Bulatova Ye.M., Shabalov A.M., Bogdanova N.M. i dr. Osobennosti vidovogo sostava bifidobakteriy kishhechnoy mikrobioty i profil' mikrobnogo metabolizma u detey pervogo polugodiya zhizni, rozhdennykh yestestvennym i operativnym putem. [Features of the species composition of bifidobacterium intestinal microbiota and microbial metabolic profile in children of the first half of the life born natural and operational way]. *Pediatr.* 2018; 9 (1): 11–6. DOI: 10.17816/PED9111-16. (in Russian)
14. Berezkina Ye.N., Novikova V.P., Zav'yalova A.N. i dr. Pitaniye beremennykh zhenshchin i kormyashchikh materey v perinatal'nom tsentre: sub'yektivnyye i ob'yektivnyye otsenki. [Nutrition of pregnant women and nursing mothers in the perinatal center: subjective and objective assessments]. *Lechashchiy vrach.* 2020; 6: 38–43. DOI: 10.26295/OS.2020.39.39.007. (in Russian)
15. Berezkina Ye.N., Ivanov D.O., Novikova V.P. i dr. Karakter vskarmlivaniya novorozhdennykh v perinatal'nom tsentre. [The nature of feeding newborns in the perinatal center]. *Trudnosti pervykh dnei.* *Pediatr.* 2020; 11(4): 5–13. DOI: 10.17816/PED1145-13. (in Russian)
16. Tanaka M., Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol. Int*; 2017; 66: 515–22. 20.
17. Bunyavanich, S., Berin M.C. Food allergy and the microbiome: Current understandings and future directions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 144: 1468–77.
18. Lynch S.V. Gut microbiota and allergic disease: New insights. *Ann. Am. Thorac. Soc*; 2016; 13: S51–4.
19. Hooper L.V., Littman D.R., Macpherson A.J. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science.* 2012; 336: 1268–73. DOI: 10.1126/science.1223490
20. Tsabouri S., Priftis K.N., Chaliasos. N., Siamopoulou A. Modulation of gut microbiota downregulates the development of food allergy in infancy. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2014; 42: 69–77.
21. Francino M.P. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens*; 2014; 3: 769–90. DOI: 10.3390/pathogens3030769.

22. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*; 2014; 157: 121–41. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
23. Zheng D., Liwinski T., Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res.* 2020; 30: 492–506. DOI: 10.1038/s41422-020-0332-7.
24. Olszak T., An D., Zeissig S. et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*; 2012; 336: 489–93. DOI:10.1126/science.1219328.
25. Flier A., Krediet T.G. Innate immunity: toll-like receptors and some more. A brief history, basic organization and relevance for the human newborn. *Neonatology.* 2007; 92: 145–57. DOI: 10.1159/000102054.
26. Nyangahu D.D., Jaspan H.B. Influence of maternal microbiota during pregnancy on infant immunity. *Clin Exp Immunol*; 2019; 198: 47–56.
27. Ivanov D.O., Uspenskiy Yu.P., Gurova M.M. i dr. Mikrobiota, intellekt cheloveka i metabolicheskiy sindrom: patogeneticheskiye paralleli. [Microbiota, human intelligence and metabolic syndrome: pathogenetic parallels]. *University Therapeutic Journal.* 2020; 2(1): 16. (in Russian).
28. Gurova M.M., Romanova T.A., Popova V.S. Rol' kishechnoy mikrobioty v formirovaniy pishchevoy neperenosimosti. [Rol of intestinal microbiota in the formation of food intolerance]. *Medsitsina: teoriya i praktika.* 2019; 4(1): 1229–32. (in Russian)
29. Karpeyeva Yu.S., Novikova V.P., Khavkin A.I. i dr. Mikrobiota i bolezni cheloveka: vozmozhnosti diyeticheskoy korrektsii. [Microbiota and human disease: the possibilities of dietary correction]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii.* 2020; 65(5): 116–125. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-116-125. (in Russian).
30. Al Nabhani Z., Eberl G. Imprinting of the immune system by the microbiota early in life. *Mucosal Immunol.* 2020; 13: 183–9. DOI: 10.1038/s41385-020-0257-y.
31. Fiocchi C. What is “physiological” intestinal inflammation and how does it differ from “pathological” inflammation? *Inflamm Bowel Dis.* 2008; 14 (Suppl. 2): S77–78. DOI: 10.1002/ibd.20618.
32. Weström B., Sureda E.A., Pierzynowska K. et al. The Immature Gut Barrier and Its Importance in Establishing Immunity in Newborn Mammals. *Front Immunol.* 2020; 11: 1153. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01153.
33. Perez-Cano F.J., Castellote C., Gonzalez-Castro A.M. et al. Developmental changes in intraepithelial T lymphocytes and NK cells in the small intestine of neonatal rats. *Pediatr Res*; 2005; 58: 885–91. DOI: 10.1203/01.pdr.0000182187.88505.49.
34. Al Nabhani Z., Dulauroy S., Marques R. et al. A weaning reaction to microbiota is required for resistance to immunopathologies in the adult. *Immunity.* 2019; 50: 1276–88. e1275. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.02.014.
35. Gomez-Gallego C., Garcia-Mantrana I., Salminen S., Collado M.C. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016; 21: 400–5. DOI: 10.1016/j.siny.2016.05.003.
36. Tamburini S., Shen N., Wu H.C., Clemente J.C. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med.* 2016; 22: 713–22. DOI: 10.1038/nm.4142.
37. Ximenez C., Torres J. Development of microbiota in infants and its role in maturation of gut mucosa and immune system. *Arch Med Res.* 2017; 48: 666–80. DOI: 10.1016/j.arcmed.2017.11.007.
38. Nogacka A.M., Salazar N., Arboleya S. et al. Early microbiota, antibiotics and health. *Cell Mol Life Sci.* 2018; 75: 83–91. DOI: 10.1007/s00018-017-2670-2.
39. Rizzetto L., Fava F., Tuohy K.M., Selmi C. Connecting the immune system, systemic chronic inflammation and the gut microbiome: The role of sex. *J Autoimmun.* 2018; 92: 12–34. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.05.008.
40. Gurova M.M., Khavkin A.I. Mesto metabiotikov v korrektsii disbioza kishechnika. [The place of metabiotics in the correction of the intestinal dysbiosis]. *Vo prosy prakticheskoy pediatrii.* 2018; 13(2): 70–6. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-2-70-76. (in Russian).
41. Barber T.M., Valsamakis G., Mastorakos G. et al. Dietary Influences on the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(7): 3502.
42. Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B. et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007; 5(7): 177. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177.
43. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006; 444 (7122): 1022–5. DOI: 10.1038/4441022a.
44. Macpherson A.J., and Harris N.L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2004; 4, 478–85.
45. Hooper. L.V., Macpherson. A.J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10: 159–69.
46. Vivier E., Raulet D.H., Moretta A. et al. Innate or adaptive immunity. The example of natural killer cells. *Science.* 2011; 331(6013): 44–9. DOI: 10.1126/science.1198.