© Коллектив авторов, 2007

С.Е. Украинцев[1], Е.Ф. Лукушкина[2], Т.С. Лазарева[2], И.Н. Власова[2], Н.В. Кутилова[2], С.П. Гуренко[2], Е.А. Шишкина[2]

ОЛИГОСАХАРИДЫ ГРУДНОГО МОЛОКА И ПРЕБИОТИКИ В ПИТАНИИ ГРУДНЫХ ДЕТЕЙ

[1] Компания «Нестле Россия», [2] Нижегородская медицинская академия, РФ

Возрастающий интерес к компонентам питания, способным оказывать положительное влияние на состояние здоровья, привел к формированию новых направлений в создании продуктов для детей первого года жизни. Одно из них – введение в состав детской смеси пребиотиков-олигосахаридов (ОС) с целью улучшения состава кишечной микрофлоры (КМФ), оптимизации функционирования желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). При этом за образец обычно принимают ОС грудного молока (ГМ) – вещества уникальные за счет сложности и разнообразия строения, вариабельности содержания в ГМ и важности выполняемых в организме ребенка функций. В последнее время появилось много новых данных, касающихся строения ОС ГМ и функций, выполняемых ими.

ОС были обнаружены в составе ГМ достаточно давно – в 30-е годы прошлого столетия [1], однако длительное время существовало мнение, что они не несут какой-либо важной функции, синтезируясь «случайно» из лактозы с помощью ферментов – гликозилтрансфераз, участвующих в синтезе гликопротеинов и гликолипидов [2]. Позже в ряде работ было показано, что ОС играют важную роль в развитии ребенка, выполняя ряд важнейших, в том числе и защитную, функций.

О важности ОС ГМ можно косвенно судить по их концентрации – в зрелом молоке их содержание достигает 10–12 г/л – это третья по величине фракция после лактозы и жиров. В молозиве содержание ОС еще больше – до 30–50 г/л [3]. Очевидно, что компоненты, содержащиеся в ГМ в такой высокой концентрации, не могут не нести в себе важных функций.

Синтез ОС осуществляется в ацинарных клетках молочной железы из 5 основных компонентов – лактозы, галактозы, сиаловой кислоты, фукозы и N-ацетилглюкозамина. С помощью фермента гликозилтрансферазы отдельные моносахариды добавляются к молекуле лактозы, образуя углеводные цепи различной длины и разной степени разветвленности. На сегодняшний день расшифрована химическая структура около 130 ОС ГМ [4]. Предполагаемое количество разновидностей, присутствующих в ГМ – десятки тысяч. Многочисленность и вариабельность строения ОС ГМ – от относительно простых по строению фукозилолигосахаридов до сложных фукопентаоз – делают невозможным «скопировать» их в лабораторных условиях по крайней мере на нынешнем этапе [5].

Кроме того, показана значительная вариабельность состава и содержания ОС в ГМ кормящих женщин в зависимости от возраста женщины, расовой принадлежности, срока гестации, после которого был рожден ребенок, периода лактации и др. [6, 7].

Важным свойством ОС ГМ является их устойчивость к действию пищеварительных ферментов, что позволяет им в неизмененном виде достигать толстой кишки и выводиться с калом. В толстой кишке некоторые свободные (не конъюгированные с белком или липидами) ОС используются бифидобактериями (ББ) и лактобациллами (ЛБ) в качестве пищевого субстрата. Таким образом, ОС ГМ выполняют одну из своих функций – участие в поддержании оптимального состава КМФ ребенка путем селективной стимуляции роста ББ и БЛ.

Важнейшей функцией ОС ГМ следует, по-видимому, считать защитную, которая связана с их способностью связывать некоторые патогенные бактерии, вирусы и их токсины и выводить их из организма ребенка. Каким же образом осуществляется эта функция?

Решающим патофизиологическим механизмом развития многих инфекционных заболеваний у детей является способность патогенов (*E. coli, Campilobacter jejuni, Shigella spp, Vibrio Cholerae, Str. pneumoniae, Haemohfilus influenzae* и др.) прикрепляться к рецепторам на поверхности клеток слизистой оболочки, вызывая те или иные заболевания. Рецепторы на поверхности клеток синтезируются при помощи тех же ферментов, которые участвуют в синтезе ОС в грудной железе – гликозилтрансфераз. В результате ОС имеют структурное сходство с рецепторами клеток слизистых оболочек, к которым потенциально могут

адгезироваться патогены. Эта уникальная особенность строения позволяет ОС ГМ связывать патогенные бактерии, вирусы или их токсины, выводить их из организма, защищая таким образом ребенка от развития инфекционных заболеваний. К настоящему времени продемонстрирована способность ОС ГМ ингибировать адгезию к слизистой оболочке таких патогенов, как *Str. pneumoniae* и *Haemohfilus influenzae* [8], термостабильного токсина *E. coli* [9], энтеропатогенной *E. coli* [10], энтеротоксинов *E. coli и Vibrio Cholerae* [11], ротавируса, *Campilobacter jejuni*, уропатогенной *E. coli*. Подтверждением этому является исследование, в котором изучалась зависимость частоты диарейных заболеваний у грудных детей в зависимости от уровня ОС в ГМ их матерей. В результате было показано, что чем выше было содержание ОС в ГМ, тем реже раз-

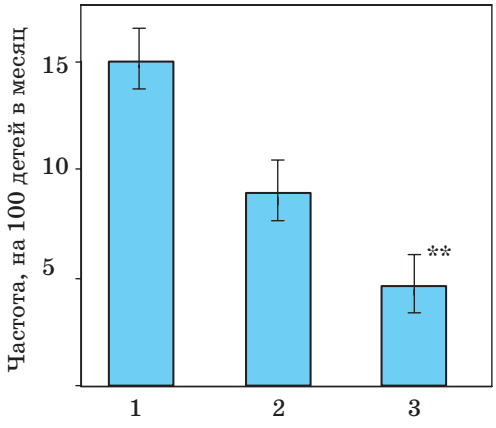

Рис. 1. Частота диарейных заболеваний у детей, получающих грудное молоко с различным содержанием олигосахаридов*.
* По данным [12]; 1 – низкое содержание ОС, 2 – среднее содержание ОС, 3 – высокое содержание ОС, ** p<0,001.

вивались диарейные заболевания у детей, вскармливавшихся этими женщинами (рис. 1) [12].

В работах, изучавших содержание ОС в кишечнике у детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, было показано, что содержание ОС в кале у детей, вскармливающихся ГМ, в десятки раз выше, чем у детей, получающих в качестве питания стандартные молочные смеси (см. таблицу) [13].

Таблица

Содержание ОС в кале и моче у детей на различных видах вскармливания

Вид вскармливания	ОС в кале, нмоль/г	ОС в моче, нмоль/л
Грудное вскармливание	32000±16000	36±10
Молочная смесь	520±130	41,5

В этой же работе было продемонстрировано, что определенная часть ОС выводится в неизмененном виде с мочой, что говорит об их способности проникать в системный кровоток из кишечника. Таким образом, ОС ГМ обеспечивают защиту ребенка от инфекционных заболеваний не только на всем протяжении ЖКТ, но и на уровне верхних дыхательных путей (ротоглотка), мочевыводящей системы и, возможно, системно. Необходимо отметить, что защитные свойства описаны для тех ОС ГМ, которые имеют очень сложное строение с наличием в их структуре фукозы и/или сиаловой кислоты, а не простых галактоолигосахаридов.

Эти данные еще раз подтверждают уникальность состава ГМ и необходимость способствовать максимальному сохранению ГМ в рационе питания грудного ребенка.

Современные технологии позволяют получать определенные виды ОС и вводить их в состав детских молочных смесей (ДМС) и других продуктов детского питания. За образец при этом обычно принимают ОС ГМ. Однако совершенно очевидно, что синтезировать ОС, которые обладали бы всеми присущими им свойствами, сегодня невозможно. Большинство производителей детского питания в качестве пребиотического комплекса используют в своих продуктах комбинацию 90% галактоолигосахаридов (ГОС) и 10% фруктоолигосахаридов (ФОС). Эта комбинация является наиболее изученной, близка по молекулярной массе к ОС ГМ, показала наибольшую эффективность в плане улучшения состава КМФ и показателей функционирования ЖКТ и поэтому рекомендована в большинстве стран Европы в качестве пребиотического компонента при введении его в состав ДМС. При этом максимальное рекомендованное количество ГОС/ФОС для введения в состав смесей составляет 8 г/л. ГОС в этом случае представлены синтезированными ГОС и относительно простого строения, представляющими собой полимеры галактозы разной длины цепи с терминальной молекулой глюкозы. ФОС представляют собой полимеры фруктозы, с длиной цепи от 5–10 (собственно, ФОС – это продукты гидролиза инулина) до 60 и более (инулин). Основным источником инулина для промышленных нужд является цикорий, из корня которого инулин и получают. Таким образом, пребиотические компоненты в различных ДМС мало отличаются друг от друга. Различия могут касаться длины цепи ФОС – некоторые производители используют короткоцепочечные ФОС, в составе ДМС других производителей используются длинноцепочечные ФОС – инулин. Эти различия не играют решающей роли в реализации пребиотического эффекта ДМС, поскольку ББ и ЛБ с одинаковой эффективностью используют в качестве пищевого субстрата и короткоцепочечные ФОС, и инулин.

Так, в работе Van der Meulen и соавт. [14] было показано, что, в частности, *B. longum* BB536 –

штамм, наиболее часто выделяемый из кишечника детей, находящихся на грудном вскармливании, и широко используемый в качестве пробиотика, – метаболизирует в первую очередь именно короткоцепочечные ФОС, используя их в качестве пищевого субстрата, а затем расщепляет ФОС с большей длиной цепи. Эти данные были подтверждены в отношении различных штаммов ББ в работах других авторов [15, 16].

Зачастую, оценивая эффект пребиотического компонента ДМС, его пытаются сравнивать с пребиотическим эффектом ГМ. На наш взгляд, такой подход не может быть использован, поскольку пребиотический эффект ГМ обусловлен не только наличием в нем ОС, а является намного более сложным и комплексным, включая в себя относительно низкое содержание белка, невысокое количество фосфора. Кроме того, ФОС в составе ГМ нет.

Тем не менее введение ОС в состав ДМС придает им определенные дополнительные положительные «функциональные» свойства. Доказанным на сегодняшний день является влияние добавления пребиотиков в состав ДМС на функционирование ЖКТ ребенка. В частности, в нескольких исследованиях показано положительное влияние смесей с пребиотиками на частоту и консистенцию стула у грудных детей: применение смесей, обогащенных ГОС/ФОС, способствует профилактике формирования функциональных запоров у грудных детей. Механизм влияния пребиотиков на показатели стула у грудных детей включает в себя несколько компонентов. Нормализация состава КМФ (увеличение числа ББ) приводит к увеличению объема каловых масс, поскольку у грудного ребенка каловые массы на 50% состоят из бактерий. В процессе метаболизма пребиотиков представителями КМФ происходит выделение короткоцепочечных жирных кислот, которые стимулируют кишечную перистальтику. Являясь осмотически активными веществами, пребиотики способствуют удержанию в просвете кишки определенного количества жидкости, что обеспечивает достаточную эластичность каловых масс.

Влияние пребиотиков на скорость кишечного транзита у недоношенных детей была продемонстрирована в оригинальном исследовании Michatsch W.A. и соавт. (рис. 2) [17].

Назначение недоношенным детям ДМС, обогащенной пребиотиками (ГОС/ФОС), приводило к увеличению скорости кишечного транзита, что означает более активную перистальтику и предупреждение формирования запоров. В этой же работе изучали влияние добавления пребиотиков в состав ДМС на консистенцию каловых масс. У детей, получавших ДМС с пребиотиками, чаще наблюдался кашицеобразный или мягкий стул по сравнению с детьми контрольной группы, у которых наблюдался плотный или оформленный стул (рис. 3).

В нескольких работах было показано положительное влияние обогащения смесей пребиотиками на состав КМФ. Так, в работе Fernando et al. (2004) было установлено, что применение ДМС, обогащенных пребиотиками, приводило к селективной стимуляции роста ББ и ЛБ.

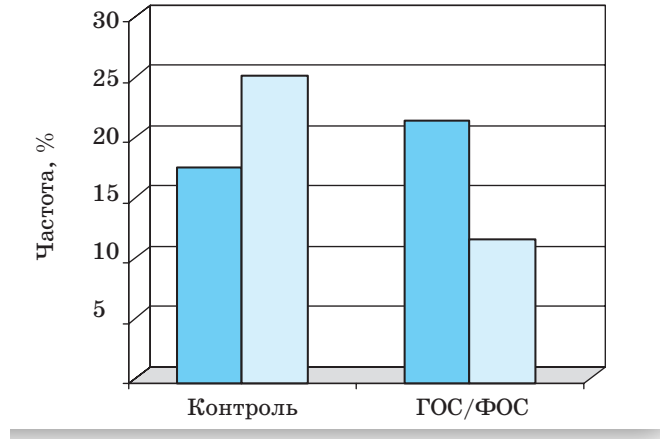

Рис. 2. Влияние ДМС, обогащенной пребиотиками, на время кишечного транзита.
1-й столбик – исходно, 2-й столбик – на 14-й день.

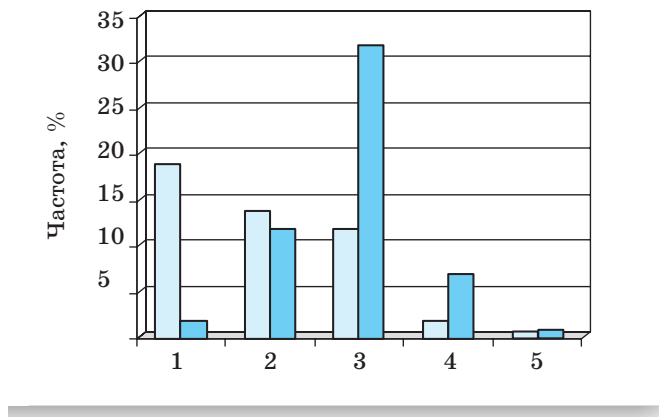

Рис. 3. Влияние ДМС, обогащенной пребиотиками, на консистенцию кала.
1 – плотный кал, 2 – оформленный кал, 3 – мягкий кал, 4 – кашицеобразный кал, 5 – водянистый кал, 1-й столбик – контроль, 2-й столбик – ГОС/ФОС.

Таким образом, ОС, вводимые сегодня в состав продуктов детского питания, имеют существенные отличия от ОС ГМ, которые не позволяют воссоздать ни структурное многообразие ОС ГМ, ни их многочисленные функции. Введение пребиотиков – обычно комбинации ГОС/ФОС – в состав ДМС и продуктов прикорма позволяет воздействовать на функционирование ЖКТ ребенка по пути формирования пищеварительного комфорта – снижению риска развития запоров, улучшению состава КМФ. Именно эти положительные эффекты и являются на сегодняшний день наиболее изученными и доказанными в большом количестве серьезных клинических исследований.

Функциональные нарушения пищеварения достаточно часто формируются у детей, находящихся на искусственном вскармливании, и эффективным путем для их предупреждения или коррек-

ции является применение ДМС, обладающих функциональными свойствами. Специалистами Научно-исследовательского центра Нестле созданы новые смеси Нестожен 1 и 2, призванные обеспечить комфортное пищеварение детям, находящимся на искусственном вскармливании. В состав смесей включена комбинация пребиотиков preBIO Nestle, состоящая из 90% ГОС и 10% ФОС. Кроме того, белковый компонент смеси Нестожен 1 отличается преобладанием сывороточных белков, которые легче переваривают-ся и усваиваются по сравнению с казеином, снижая риск развития нарушений пищеварения. Смесь Нестожен 1 характеризуется сниженным содержанием фосфора при оптимальном соотношении Ca:P, что благоприятно сказывается на составе КМФ за счет создания в кишке условий, благоприятных для роста ББ, а также обеспечивает оптимальное всасывание Ca и P.

Эффективность новых смесей Нестожен в предупреждении и коррекции нарушений пищеварения у грудных детей, а также их переносимость были изучены в ходе нескольких клинических исследований на базе детских лечебно-профилактических учреждений России.

В исследовании Е.Ф. Лукушкиной и соавт. (в печати) изучались переносимость и эффективность смеси Нестожен 1 у детей первого полугодия жизни. В исследовании, проводившемся в марте – мае 2007 г. на базе 4 детских поликлиник Н. Новгорода и Дзержинска, принимали участие 41 ребенок в возрасте от 20 дней до 5 месяцев. Дети были разделены на 2 группы – 1-я группа детей (21 человек) получала новую смесь Нестожен 1, дети 2-й группы (20 человек) – стандартную ДМС. В ходе исследования оценивали переносимость смеси, антропометрические показатели, изменения в составе КМФ, а также наличие и динамику проявлений функциональных нарушений пищеварения.

Переход на новую смесь у детей 1-й группы проводили постепенно, затруднений при этом у родителей не было. Все дети принимали новую смесь охотно, аппетит был хорошим либо улучшился в случае изначально сниженного, ночной сон не нарушался. Показатели физического развития не отличались в обеих группах и соответствовали возрастным нормам прибавки массы тела и роста. У одного ребенка смесь была отменена из-за беспокойства ребенка и отказа ребенка от смеси, у одного ребенка несколько усилились срыгивания. У 3 детей из контрольной группы появились покраснение и шелушение кожи щек на 2–3-и сутки от начала применения, у одного – усилились срыгивания.

Практически у всех обследуемых детей на момент начала исследования имелись те или иные функциональные нарушения пищеварения, причем у 39% они носили сочетанный характер.

Динамика функциональных нарушений пищеварения у детей обеих групп на фоне приема исследованных смесей представлена на рис. 4.

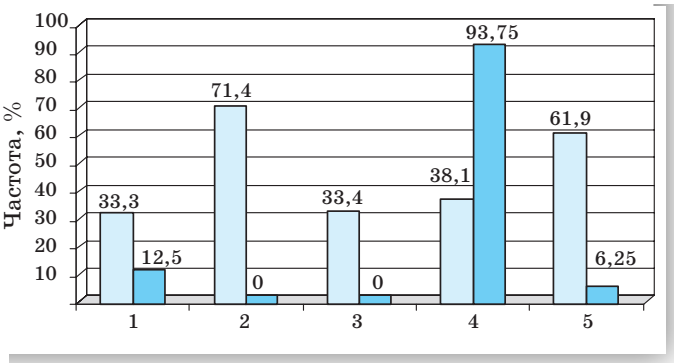

Рис. 4. Динамика основных проявлений функциональных нарушений пищеварения у детей на фоне приема смеси Нестожен 1.
1 – колики, 2 – частые срыгивания, 3 – запоры, 4 – кашицеобразный стул, 5 – плотный кал; здесь и на рис. 5: 1-й столбик – в начале исследования, 2-й столбик – в конце исследования.

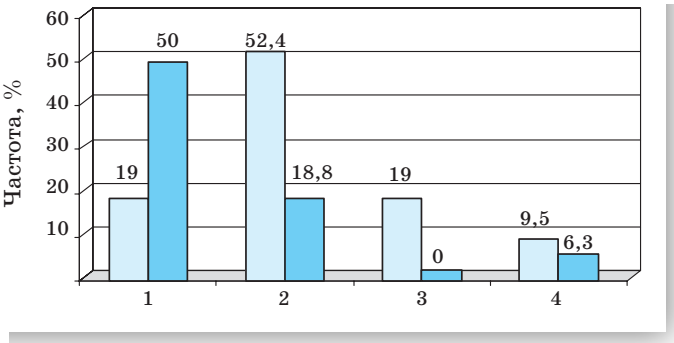

Рис. 5. Динамика состава КМФ у детей, получающих смесь Нестожен 1.
1 – нормальное содержание ББ и ЛБ, 2 – *St. aureus*, 3 – гемолитическая кишечная палочка, 4 – грибы рода *Candida*.

В ходе проведенного исследования изучалось также влияние применения смесей на состав КМФ. В результате было установлено, что применение смеси Нестожен 1 с пребиотиками приводило к существенной положительной динамике в составе КМФ по сравнению с контрольной группой детей, получавших стандартную ДМС, у которых полной нормализации состава КМФ не наблюдалось ни у одного ребенка. Динамика изменений в составе КМФ у детей представлена на рис. 5.

Таким образом, применение пребиотиков в составе ДМС Нестожен 1 и 2 является одним из путей обеспечения пищеварительного комфорта у детей первого года жизни, находящихся на искусственном вскармливании. Этот эффект достигается за счет снижения риска развития запоров, формирования регулярного мягкого стула, улучшения состава КМФ и процессов пищеварения.

Использование новых смесей, обладающих помимо питательных функциональными свойствами, поможет оптимизировать питание и состояние здоровья детей, получающих искусственное вскармливание.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Polonovsky M., Lespagnol A.* Nouvelles acquisition sur les composes glucidiques du lait de femme. Bull. Soc. Chim. Biol. 1933; 15:320–349.

2. *Kobata A.* Milk glycoproteins and oligosaccharides. Mammalian Glycoproteins and Glycolipids Eds. Horowitz M.I. Pigman W. Academic Press, New York. 1974; 1: 423–440.

3. *Kunz C., Rudloff S. et al.* Lactose-derived oligosaccharides in the milk of elephants: comparison with human milk. Br. J. Nutr. 1999; 82: 391–399.

4. *McVeagh P., J. Brand Miller.* Human milk oligosaccharides – only the breast. J. Paediatr. Child H. 1997; 33: 281–288.

5. *Newburg D.S.* Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. JPGN. 2000; 30, Suppl.2: S8–S17.

6. *Brand-Miller J.B., Bul S., Miller J., Mc Veagh P.* The oligosaccharide composition of human milk: temporal and individual variations in monosaccharide components. J. Pediatr. Gasroenterol. Nutr. 1994; 19: 371–376.

7. *Davidson B., Meinzen-Derr J.K., Wagner C.L. et al.* Fucosylated oligosaccharides in human milk in relation to gestational age and stage of lactation. Adv. Exp. Med. Biol. 2004; 554: 427–430.

8. *Andersson B., Porras O., Hanson L. A. et al.* Inhibition of attachment of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* by human milk and receptor oligosaccharides. J. Infect. Dis. 1986; 153: 232–237.

9. *CraneJ.K., Azar S.S. et al.* Oligosaccharides from human milk block binding and activity of the *Escherichia coli* heat-stable enteroroxin in T84 intestinal cells. J. Nutr. 1994; 124: 2358–2364.

10. *Cravioto A., Tello A. et al.* Inhibition of localized adhesion of enteropatogenic *Escherichia coli* to HEp-2 ctlls by immunoglobulin and oligosaccharide fractions of colostrum and breast milk. J. Infect. Dis. 1991; 163: 1247–1255.

11. *Otnaess A.-B.K., Laegreid A. et al.* Inhibition of enterotoxin from *Escherichia coli* and *Vibrio Cholerae* by gangliosides from human milk. Infect. Immun. 1983; 40: 563–569.

12. *Morrow et al.* Human milk and diarrhea in breast-fed infants. J. Ped. 2004; 145(3): 297–303.

13. *Newburg D.S.* Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. JPGN. 2000; 30, Suppl.2: S8–S17.

14. *Van der Meulen R., Makras L., Verbrugghe K. et al.* In vitro kinetic analisis of oligofructose consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium* spp. indicates different degradation mechanisms. Applied and Enviromental Microbiology. 2006; 72, 2: 1006–1012.

15. *Gibson G.R., Beatty E.R., Wang X., Cummings J.H.* Selective stimulation of *bifidobacteria* in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroenterology. 1995; 108(4): 975–982.

16. *Bouhnik Y., Raskine L. et al.* The capacity of short-chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal *bifidobacteria*: a dose-response relationship study in healthy humans. Nutrition Journal. 2006; 5: 8.

17. *Mihatsch W.A., Hoegel J., Pohlandt F.* Prebiotic oligosaccharides reduce stool viscosity and accelerate gastrointestinal transport in preterm infants. Acta Paediatrica. 2006; 95: 843–848.