

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России)

*На правах рукописи*

**Модель Галина Юрьевна**

**БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАРТОВОГО  
ПОЛИФЕРМЕНТНОГО ДИГЕСТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА  
НОВОРОЖДЕННОГО**

03.01.04 – биохимия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заслуженный деятель науки РФ,

доктор медицинских наук, профессор

**Быков Илья Михайлович**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

**Пенжоян Григорий Артёмович**

Краснодар – 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Введение .....</b>	<b>5</b>
<b>Глава 1. Питание и пищеварение в раннем онтогенезе человека.</b>	
<b>Биохимические и физиологические аспекты</b>	
<b>(обзор литературы) .....</b>	<b>15</b>
1.1. Гемотрофия плода .....	17
1.2. Амниотрофия плода .....	18
1.3. Собственное пищеварение плода .....	21
1.4. Пищеварение в постнатальный период развития ребенка при лактотрофии и смешанном питании .....	25
1.5. Биохимические характеристики основных компонентов ранних этапов питания и пищеварения новорожденных .....	28
1.5.1. Грудное молоко .....	28
1.5.2. Белки и пептиды в составе грудного молока .....	33
1.5.3. Липиды в составе грудного молока .....	37
1.5.4. Ферменты грудного молока .....	41
1.6. Биохимические и физиологические аспекты индуцированной энзимами трансформации основных компонентов грудного молока у новорожденных .....	45
1.6.1. Гидролиз белков .....	45
1.6.2. Гидролиз липидов .....	49
1.6.3. Гидролиз углеводов .....	53
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования .....</b>	<b>57</b>
2.1. Контингент обследованных новорожденных и родильниц .....	59
2.2. Методы определения гидролаз .....	64
2.3. Статистическая обработка данных .....	66

<b>Глава 3. Гидролазы сыворотки крови новорожденных в характеристике стартового дигестивного ферментного потенциала их системы пищеварения .....</b>	<b>67</b>
3.1. Гидролазы сыворотки крови .....	67
3.2. Гидролазы сыворотки крови пуповины новорожденных с полным и неполным гестационным сроком .....	69
3.3. Гидролазы сыворотки крови доношенных и недоношенных детей в течение первого месяца постнатального периода индивидуального онтогенеза .....	73
<b>Глава 4. Гидролазы аспирата желудочного содержимого новорожденных детей в характеристике стартового дигестивного ферментного потенциала их системы пищеварения .....</b>	<b>82</b>
<b>Глава 5. Комплексное исследование гидролаз пищеварительных желез доношенных и недоношенных новорожденных детей .....</b>	<b>88</b>
5.1. Гидролитические ферменты сыворотки крови родильниц и сыворотки крови пуповины новорожденных при нормальных и неполных сроках гестации .....	90
5.2. Ферменты пищеварительных желез в околоплодных водах .....	96
5.3. Ферменты желудочного содержимого .....	102
5.4. Современные методы анализа данных в определении стартового дигестивного потенциала новорожденных .....	105
5.5. Основные итоги комплексного исследования гидролаз системы пищеварения доношенных и недоношенных новорожденных детей .....	109

<b>Заключение</b> .....	112
<b>Выводы</b> .....	121
<b>Практические рекомендации</b> .....	123
<b>Список сокращений</b> .....	124
<b>Список литературы</b> .....	125
<b>Приложения</b> .....	146

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Естественное грудное вскармливание новорожденного ребенка признано «золотым стандартом» и определило доминирующее внимание к уникальным нутритивным, электролитным и витаминным свойствам грудного молока и его многочисленных заменителей (Шабалов Н.П., 2006; Володин, Н.Н., 2007; Тутельян В.А., Конь И.Я., 2009). Однако, усвоение нутриентов молока для последующей их пластической и энергетической утилизации вскармливаемым младенцем требует предварительного гидролиза в его системе пищеварения (Уголев А.М., 1985; Баранов А.И., Климанская Г.В., Римарчук Г.В., 2003; Конь И.Я., 2009; Ширина Л.И., Мазо В.К., 2009; Коротько Г.Ф., 2009, 2014, 2016). Это реализуется ферментами пищеварительных желез и тонкой кишки ребенка по типу собственного пищеварения и ферментами молозива и зрелого молока по типу аутолитического пищеварения (Закс М.Г., Никитин В.Н., 1975; Уголев А.М., 1985; Коротько Г.Ф., 2016, 2018).

Аутолиз липидов и протеинов молозива и молока индуцируется гидролазами пищеварительных желез ребенка (Тутельян В.А., Конь И.Я., 2009; Коротько Г.Ф., 2014), сформировавшихся в антенатальный период его развития и их ферменты составляют стартовый дигестивный потенциал новорожденного (Коротько Г.Ф., 2016, 2018). Высвобождение триглицеридов из жировых глобул грудного молока производится гидрофобными липазами лингвальных, слюнных и желудочных желез, разрушающих фосфолипиды мембраны глобул. Только после этого высвободившиеся из глобул триглицериды молока гидролизуются желче- и колипазозависимыми панкреатической и кишечной липазами, и продукты гидролиза липидов всасываются тонкой кишкой (Скидан И.Н., Бельмер С.В., 2018). Продукты деградации мембраны глобулы также важны в естественной лактотрофии и в недавно созданных молочных смесях (Захарова И.Н., Дмитриева Ю.А.,

Гордеева Е.А., 2015; Комарова О.Н., Хавкин А.И., 2016). Гидролиз казеина сначала ведется в желудке слюнными и желудочными гидролазами (в том числе фетальными пепсиногенами) и завершается в тонкой кишке панкреатическими и тонкокишечными пептидазами. Его количественная характеристика актуальна, так как совместно с аутолизом нутриентов обеспечивает переваривание нутриентов молока и, следовательно, эффективность молочного вскармливания младенца (Конь И.Я., 2009; Коротько Г.Ф., 2016, 2018). Таким образом, актуальной проблемой является изучение функциональной зрелости пищеварительной системы новорожденного и готовности организма ребенка к переходу на лактотрофное питание.

**Степень разработанности темы.** Несмотря на значительный практический интерес и многочисленные работы, посвященные пищеварению новорожденных, определение ферментативной активности пищеварительных секретов в перинатологии, неонатологии и педиатрии для характеристики дигестивного стартового (начального) потенциала ни в научном, ни в прикладном плане не стало объектом исследовательского внимания, хотя очевидно, что снижение данного морфофункционального потенциала может выступать фактором риска в развитии новорожденного. В научной литературе как отечественной, так и зарубежной, вопросам постнатального вскармливания уделено немалое внимание (Ballard O., Morrow A.L., 2013; Pereira P.C., 2014; Demmelair H., Koletzko B., 2018), однако в аспекте исходной способности новорожденного к переходу на лактотрофное питание исследования практически не проводились. Следовательно, изучение формирования и определение характеристик полиферментного дигестивного потенциала при нормальных и неполных сроках гестации, имеет научный и прикладной интерес, его показатели могут составить один из важных критериев акушерского анамнеза новорожденного. Это имеет не только научно-практическую, но и социальную актуальность в

демографической оптимизации, улучшении качества жизни, здоровья населения, во многом зависящего от физиологически нормально совершенного периода естественного грудного и смешанного вскармливания детей первого года жизни (Запруднов А.М. и соавт., 2013, 2016, 2017).

**Цель исследования** – охарактеризовать биохимические критерии полиферментного дигестивного стартового потенциала новорожденных, как одного из трофологических параметров в прогнозировании эффективности лактотрофии.

**Задачи исследования:**

1. Определить сущность и понятие полиферментного стартового дигестивного потенциала у доношенного и недоношенного ребенка.

2. Изучить содержание гидролаз пищеварительных желез и ряда метаболических энзимов в биологических жидкостях, взятых в родах: в сыворотке крови роженицы; в околоплодных водах; в сыворотке крови пуповины новорожденного; в натошачевом содержимом желудка новорожденного.

3. Изучить состав гидролаз пищеварительных желез в различных биологических жидкостях в зависимости от срока гестации (доношенная и недоношенная беременности).

4. На основании количественной характеристики стартового дигестивного потенциала новорожденного определить прогноз эффективности естественной лактотрофии при нормальной и недоношенной беременностях.

**Научная новизна исследования.** На основании результатов проведенного исследования впервые:

1. Определена сущность и обосновано понятие «Стартовый полиферментный потенциал новорожденного», раскрыты основные

биохимические характеристики и представлена концепция его формирования антенатально у плода пищеварительными железами и эпителиоцитами тонкой кишки при полном и неполном гестационном периоде совместно с гидролазами молока путем собственного и аутолитического типов пищеварения, которые способны обеспечить эффективную лактотрофию ребенка (диплом на открытие № 499 «Закономерность формирования у новорожденных детей дигестивного стартового потенциала»);

2. Изучен состав гидролаз пищеварительных желез в различных биологических жидкостях новорожденных и родильниц в зависимости от срока гестации ( доношенная и недоношенная беременности);

3. На основании количественной характеристики стартового дигестивного потенциала новорожденного определен прогноз эффективности естественной лактотрофии при нормальной и недоношенной беременностях;

4. Предложен способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию (патент на изобретение № 2627432);

5. Разработано программное приложение (свидетельство № 2018613663), демонстрирующее принципиальную возможность построения программ, способных с высокой достоверностью предсказывать ферментный статус системы пищеварения новорожденных.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования.**

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании понятия «Стартовый полиферментный потенциал новорожденного», формирующегося антенатально у плода его пищеварительными железами и эпителиоцитами тонкой кишки и зависящего от степени доношенности новорожденного, а также выявлении наиболее информативных показателей функциональной зрелости пищеварительной системы ребенка.



Практическая значимость исследования состоит в предложении использования метода комплексной характеристики полиферментной дигестивной готовности пищеварительного тракта новорожденного к лактотрофии для прогнозирования толерантности ребенка к назначаемому энтеральному питанию.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой диссертационного исследования явилось последовательное применение методов научного познания – наблюдение и анализ. Работа выполнена в дизайне проспективного исследования с использованием современных биохимических методов, современного оборудования и программного обеспечения. Для достижения цели исследования, решения поставленных задач и обоснования основных положений были использованы теоретический анализ информации по изучаемой проблеме, представленной в научной литературы, современные лабораторные методы исследования, методы статистической обработки данных. Планирование и формирование групп испытуемых лиц, проведение лабораторных исследований, обработка полученных данных проводились соответственно разработанному диссертантом дизайну исследования. Дизайн и порядок выполнения данного исследования был описан и обоснован в протоколе исследования. Перед началом исследования протокол был направлен для рассмотрения в независимый комитет по этике, по итогам которого получено одобрение на проведение планируемой работы (заседание Комитета по этике ГБУЗ «ККБ № 2», протокол № 64 от 06.04.2016). Исследования по запланированной теме проводились с участием лиц, имеющих соответствующую этическую и научную подготовку, образование и квалификацию под контролем компетентного и имеющего соответствующую квалификацию врача с соблюдением этических стандартов, гарантирующих уважение ко всем субъектам исследований и защиту их здоровья и прав. Объектом исследования были различные гидролитические ферменты ряда биологических жидкостей взрослых пациенток и их новорожденных детей.

Всего в исследовании принимали участие 76 диад женщина-ребенок, из которых были сформированы 2 группы женщин-рожениц и 2 группы новорожденных детей в зависимости от сроков гестации. Проведенное исследование соответствует общепринятым научным принципам и основывается на глубоком знании научной литературы, других источников информации, а также на результатах достаточных лабораторных исследований.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Антенатально сформированный дигестивный потенциал весьма вариабелен, различаясь у разных детей с нормальным сроком гестации в период первого постнатального месяца жизни. Это объясняется существенной ролью в обеспечении определенного уровня содержания гидролаз в крови пуповины не только пищеварительных желез плода, но и плаценты, ферментов материнской крови, а также несформированностью регуляторных механизмов обеспечения относительного постоянства (гомеостаза) содержания гидролаз в системном кровотоке. Практическая значимость знания его возможностей как одного из параметров и критериев благополучного постнатального развития и успешности лактотрофии определяет необходимость дальнейших поисков методов количественной биохимической характеристики дигестивного потенциала новорожденного.

2. Механизмы происхождения гидролаз пищеварительных желез в системном кровотоке новорожденного, его матери и околоплодных водах различны, о чем свидетельствует высокое содержание в околоплодных водах пепсиногена II, которое, в отличие от сыворотки крови, многократно выше, чем содержание пепсиногена I. Это, по-видимому, можно объяснить ранним созреванием у плода клеток-продуцентов пепсиногена II в пилорических и дуоденальных железах, что и обеспечивает достаточно высокое содержание данного изофермента в околоплодных водах и при недоношенной гестации. Это явление нами обнаружено впервые.

3. У доношенных детей вариабельность содержание амилазы, пепсиногена I и пепсиногена II с возрастом уменьшается при четко прослеживаемой тенденции к повышению среднего содержания ферментов. Это свидетельствует о возрастной положительной динамике ферментного потенциала glanduloцитов пищеварительных желез, синтезирующих соответствующие гидролитические ферменты, то есть о возрастном совершенствовании механизмов ферментного гомеостатирования у доношенных детей. У недоношенных детей эти процессы морфофункциональной ферментной стабилизации и нарастания содержания гидролаз не происходят или развиты в меньшей мере.

4. Полученные сведения о гидролитических ферментах сыворотки крови пуповины, околоплодных вод и содержимого желудка, их изменениях при различных сроках гестации, позволяют сделать заключение об их происхождении и диагностической информативности в оценке дигестивного потенциала новорожденного, прогнозировать нутритивные и регуляторные эффекты гидролаз пищеварительных желез и грудного молока и по результатам оценки этого потенциала определить тактику вскармливания ребенка.

5. Определение гидролаз сыворотки крови пуповины новорожденного в характеристике дигестивного потенциала актуально в прогнозировании эффективности естественной лактотрофии. Содержание  $\alpha$ -амилазы, пепсиногена I и пепсиногена II в содержимом желудка детей, сыворотке пуповинной крови и околоплодных водах являются информативными критериями оценки стартового ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденных. Стартовый ферментный дигестивный потенциал значительно снижен при недоношенной беременности. Преимуществом в оценке ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденного является определение названных гидролаз в пуповинной крови новорожденного и в сыворотке крови его родильницы с вычислением их отношения. Этот подход представляется практически значимым.

**Степень достоверности и апробации работы.** Степень достоверности результатов определяется объемом фактического материала, использованием современных лабораторных методов исследования, адекватной статистической обработкой полученных результатов и соответствием решаемых задач поставленной цели. При выполнении работы использованы современные, информативные и адекватные поставленным задачам методы исследования. Собран акушерский анамнез разных групп родильниц – с полными и неполными сроками гестации. Полученный и анализируемый материал включает достаточное количество лабораторных исследований (456 образцов крови, 108 образцов аспирата желудочного содержимого новорожденных, 76 образцов амниотической жидкости) изученных групп рожениц и новорожденных.

Диссертация выполнена в рамках комплексной темы НИР кафедры фундаментальной и клинической биохимии номер государственной регистрации АААА-А17-117060610055-4 («Изучение молекулярных механизмов и разработка инновационных биохимических подходов диагностики, мониторинга и коррекции адаптационного потенциала у лиц, работающих в экстремальных условиях, при высоких физических нагрузках и различных патологических состояниях») в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Результаты выполненной диссертационной работы были доложены и обсуждены на X Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье населения – основа процветания России» (Анапа, 2016), X Юбилейном региональном Всероссийском научно-образовательном форуме с международным участием «Мать и Дитя» (Геленджик, 2017), V Международном конгрессе по гинекологии и акушерству (Тайюань, 2017), XXIII Съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (Воронеж, 2018).

**Внедрение результатов исследования.** Материалы диссертационного исследования были внедрены в учебный процесс кафедры фундаментальной и клинической биохимии и кафедры педиатрии с курсом неонатологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, а также в практику ГБУЗ «ККБ № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ Детская краевая клиническая больница, ГБУЗ Клиническая больница скорой медицинской помощи, ГБУЗ Родильный дом г. Краснодара.

**Публикации.** Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, из которых 8 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получен патент на изобретение и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Изданы методические рекомендации по оценке стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденных.

**Личный вклад автора в исследование.** Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационной работы. Диссертантом проведена разработка дизайна исследования (85 %), проведен поиск и обзор отечественных и зарубежных источников литературы (95 %), лично выполнены все лабораторные исследования, проведена статистическая обработка и анализ полученных результатов (90 %). Соискатель принимал непосредственное участие в составлении выводов и формулировании научных положений, предложений для внедрения, разработке практических рекомендаций (85 %), написании статей (70 %) и тезисов (84 %), подготовке текста и иллюстративных материалов диссертации (96 %).

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения и списка литературы, иллюстрирована 13 таблицами и 20 рисунками. Указатель литературы содержит 209 источников, из которых 68 отечественных и 141 зарубежных авторов.

**Глава 1**  
**ПИТАНИЕ И ПИЩЕВАРЕНИЕ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА.**  
**БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**  
**(обзор литературы)**

Большая медицинская энциклопедия (1982) определила понятие питания так: «Питание – сложный процесс поступления, переваривания, всасывания и усвоения в организме пищевых веществ, необходимых для покрытия его энергетических трат, построения и возобновления клеток и тканей тела и регуляции функций организма».<sup>1</sup> Питание как неперенное условие жизни делят на естественное (экзогенное и эндогенное), и искусственное (энтеральное и парентеральное); а также лечебное и лечебно-профилактическое [Г.Ф. Коротько, 2009]. Непременным компонентом питания является процесс пищеварения. Это сложный физиологический процесс, в ходе которого принятая пища в пищеварительном тракте подвергается физическим и химическим изменениям, в результате компоненты пищи, сохранив свою пластическую и энергетическую ценность, но утратив видовую и индивидуальную специфичность, приобретают способность быть усвоенными и включенными в обмен веществ организма.

Молекулярная деградация питательных веществ пищи (пищеварение или дигестия) производится гидролитическими ферментами пищеварительных желез и эпителиоцитов тонкой кишки. В зависимости от локализации процесса пищеварения принято делить его на внутриклеточное и внеклеточное, последнее – на полостное (дистантное) и пристеночное (контактное, мембранное).

По происхождению гидролаз пищеварение делится на собственное, производимое ферментами пищеварительного тракта макроорганизма; симбионтное, реализуемое гидролазами кишечной микрофлоры

---

<sup>1</sup> БМЭ. – 1982. – Т. 19. – С. 775.

макроорганизма; аутолитическое, производимое ферментами принятой пищи. В этом виде пищеварения предложено выделять индуцированный и неиндуцированный аутолиз [Л.А. Положенкова, М.М. Шехтман, П.Б. Верховенская, 1987]. Названные типы пищеварения в различных видах питания могут происходить одновременно и последовательно в одном и разных отделах пищеварительного тракта [В.М. Покровский, Г.Ф. Коротько, 2003; Н.Н. Агаджанян, В.М. Смирнов, 2009].

И, наконец, И.А. Аршавский [И.А. Аршавский, 1967] делит питание по периодам индивидуального развития на гистотрофное (гистотрофия) – питание в фазу эмбрионального развития, длящееся 8 внутриутробных недель [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996], и амниотрофное (амниотрофия) – также в антенатальный период в фазу плацентарного развития плода (ранний фетальный период в 9-28 недели гестации и поздний фетальный период 29–40 недели гестации и до рождения). Амниотрофия плода сочетается с плацентарной гемотрофией.

Следующий – неонатальный период: ранний – 7 дней и поздний – с 8 до 28 дня после родов. При молочном вскармливании грудного ребенка до 1 года тип питания лактотрофный (лактотрофия). Как правило, к полугоду жизни ребенок переводится на смешанное вскармливание, то есть дополнительно к лактотрофии ребенку назначается прикорм. Следовательно, ребенок имеет лактотрофию и дефинитивное питание в среднем до одного года.

Итак, гистотрофия присуща оплодотворенной яйцеклетке и эмбриону с использованием нутриентов вещества цитоплазмы яйцеклетки, слизистой оболочки матки, желточного мешка. Гистотрофия не имеет пищеварения в его традиционном понимании, в котором пищей являются вещества внешней среды. При гистотрофии эндогенные полимеры как питательные вещества гидролизуются эндогенными ферментами. Это происходит путем специфического метаболизма эмбриона, использующего питательные вещества эндометрия посредством энзимов трофобластов. Поэтому оно



названо также трофобластным питанием на протяжении первых восьми недель гестации. Примерно с 16-го дня оплодотворения в питание эмбриона подключается плацента и трофобластная гистотрофия постепенно сменяется плацентарной гемотрофией. В ней питание плода обеспечивается транспортом питательных веществ из крови матери к плоду через плаценту.

Фетоплацентарный комплекс и организм матери (функциональная система мать-плод [Ю.И. Савченков, С.Н. Шилов, 2001]) имеют сложный механизм трансплацентарной и экстраплацентарной прямой и обратной взаимосвязи.

### **1.1. Гемотрофия плода**

Плацента выполняет несколько функций: метаболическую, транспортную и барьерную [В.Н. Серов, С.А. Стрижаков, С.А. Маркин, 1989]. Для реализации этих задач транспорт веществ через плаценту осуществляется посредством простой диффузии по концентрационному градиенту, облегченной диффузии, активного транспорта, а также пиноцитоза, посредством которого переносятся белки, липиды, фосфолипиды, гормоны, ферменты [Г.Ф. Коротько, 2014].

Барьерная роль плаценты реализуется путем избирательной проницаемости для веществ крови и избирательного гидролиза ряда ее полимеров. Так, глюкоза, аминокислоты и дипептиды из крови матери переходят в фетальную кровь, откуда метаболизируются тканями плода [А.М. Милованов, 1999; T.R. Regnault et al., 2005]. Считается, что плацентарный барьер не проницаем для белков, липидов и полисахаридов, но они, поступив в плаценту в составе материнской крови, гидролизуются ферментами плаценты, и образовавшиеся мономеры переходят в кровь плода [Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин, 2008]. По данным школы Н.Ф. Камакина [Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин, 2008], содержание  $\alpha$ -амилазы (ед/мл) в

экстракте гомогената плаценты  $9,2 \pm 0,5$ ; сыворотке крови матери в последнем триместре беременности  $25,01 \pm 0,80$ ; после родов у нее же  $17,75 \pm 0,65$ ; сыворотке крови пуповины  $35,3 \pm 1,8$ . Содержание липазы соответственно (ед/мл):  $212,3 \pm 16$ ;  $32,13 \pm 0,24$ ;  $21,3 \pm 0,16$ ;  $169,9 \pm 85,4$ ; содержание пепсиногена (тир.ед/мл):  $759,0 \pm 25,5$ ;  $48 \pm 15$   $44,39 \pm 1,19$ ;  $104,1 \pm 6,6$ . Активность двух последних гидролаз наибольшая в плаценте, что свидетельствует о синтезе этих ферментов именно плацентой. Она также синтезирует белок и гликоген, которые метаболизируются плодом. Следовательно, плацента в гемотрофном питании плода играет трофогенную роль не только за счёт транспорта нутриентов крови матери в кровь плода, но и за счёт синтеза для него нутриентов и гидролиза их, т.е. является полипотентным органом [Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин, 2008]. Возможно, высокое содержание ферментов в плаценте частично обеспечивается гидролазами, адсорбированными эндотелием кровеносных капилляров. Данный процесс для сосудов пищеварительного тракта известен и рассматривается как один из механизмов барьерной роли эндотелия и депонирования гидролаз. Не исключен, видимо, и транспорт некоторых ферментов из крови матери в кровь плода посредством трансцитоза. В целом же, вопрос о транспорте гидролаз крови матери в кровь плода как нормальный физиологический процесс нельзя считать решенным, но гемотрофия плода – это жизненно важный для плода процесс.

## **1.2. Амниотрофия плода**

Околоплодные воды являются «средой обитания» плода, выполняющей в течение беременности и в родах многие функции [В.Н. Серов, С.А. Стрижаков, С.А. Маркин, 1989; С.К. Cho et al., 2007]. В зависимости от срока гестации околоплодные воды (амниотическая жидкость) образуются из разных источников. В эмбриональном периоде они являются трансудатом ворсинок

хориона. Позднее, с образованием амниона, его околоплодные воды по составу подобны экстрацеллюлярной жидкости, затем являются ультрафильтратом плазмы материнской крови и секретом эпителия оболочки амниона и пуповины, а позже 20 недель гестации – и продуктом мочеобразования плода и секретом легочной ткани [Ю.И. Савченков, С.Н. Шилов, 2001, Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин, 2008].

Объем околоплодных вод зависит от сроков гестации, массы плода и плаценты [S.E. Mann, M.J. Nijland, M.G. Ross, 1996; R.A. Brace, M.L. Vermin, E. Huijsson, 2004]. Состав околоплодных вод также меняется по срокам гестации, и ряд компонентов и физических свойств вод рассматриваются как диагностические критерии зрелости плода, а также патологии беременности [Fr. Oliveira, E.G. Barros, J.A. Magalhaes, 2002; Е.В. Мельник, О.Л. Малолеткина, Е.В. Шилкина, 2016]. Трофогенную роль играют питательные вещества и кислород околоплодных вод, и их содержание в проглоченных плодом водах оказывает значительное влияние на трофику эпителия желудочно-кишечного тракта [Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин, 2008]. В классификации типов питания И.А. Аршавского их названия обозначают источник питания макроорганизма (гисто-, гемо-). Поэтому амниотрофию следует понимать как получение плодом нутриентов из околоплодных вод в результате пищеварительного процесса в желудочно-кишечном тракте плода. Пищеварение состоит в секреции, моторике, всасывании. Одни питательные вещества всасываются без их предварительного гидролиза, другие абсорбируются после их гидролиза ферментами секретов пищеварительных желез, тонкой кишки плода и околоплодных вод. Автор данной классификации типов питания утверждает [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996]: «Существенны в амниотрофном питании три фактора. Первый – продолжающаяся пицесозидательная функция: образование тех питательных веществ – белков (казеина, различных его фракций), углеводов (в частности, содержащийся уже в

околоплодных водах лактозы) и липидов, которые необходимы по своей специфичности именно для фетального периода индивидуального развития. Второй – образование альбумина, необходимого для создания коллоидно-осмотического давления. Третий фактор – помимо образования других фракций глобулинов создание  $\gamma$ -глобулинов (в особенности иммуноглобулинов)». Следовательно, в данном определении амниотрофии речь о гидролизе нутриентов не ведется, наличие в околоплодных водах гидролитических ферментов не упоминается, хотя указывается на наличие в кишечнике плода ряда ферментов. Неоднократно делается указание на всасывание в тонкой кишке плода негидролизированных нутриентов.

Через пищеварительный тракт плода за одни сутки проходит и всасывается до 1–1,5 л проглоченных околоплодных вод, а, следовательно, до 2–3 г белков, 3–4 г углеводов, 1–1,5 г липидов. Таким образом, итоговое количество питательных веществ, поступающих в пищеварительный тракт плода, достаточно велико, а существенное содержание в околоплодных водах фетальных гидролаз [R.C. Rocknee, D.R. Abramovich, 1982; П.И. Цапок, В.Н. Дроздов, 1986; Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько, В.А. Хорольский, 2017] позволяет говорить о реальности аутолитического, возможно индуцированного пищеварения в желудочно-кишечном тракте плода, с всасыванием гидролизированных и негидролизированных нутриентов. Следовательно, в пищеварительном тракте плода совершается полисубстратная амниотрофия с названными особенностями процесса пищеварения. В большом обзоре литературы, посвященном альбуминам околоплодных вод, свидетельствуется, что данный белок в околоплодных водах имеет те же назначения, что и в плазме крови, но кроме того, еще и используется как нутриент для метаболизма плода, а также служит таковым для эпителия желудочно-кишечного тракта [M.H. Beall, J.P. Wijngaard, M.J. Gemert, M.G. Ross, 2007].

В составе околоплодных вод обнаружены пепсиногены, трипсиноподобные протеазы, их ингибиторы, амилаза, липаза, щелочная и

кислая фосфатазы, а так же, кроме гидролаз, ряд метаболических энзимов. Их содержание и происхождение зависят от срока гестации. Названы следующие источники гидролаз: пищеварительные железы плода, почки, легкие, плацента, пищеварительные железы матери, гидролазы ее крови, эпителиоциты амниона, играющие важную роль в образовании околоплодных вод [П.И. Цапок, В.Н. Дроздов, 1986].

Экспериментальных и клинических свидетельств эффектов гидролитической активности ферментов околоплодных вод в аутолитическом пищеварении плода в литературе не встречается. И это не случайно, так как в пищеварительном тракте плода находятся не только околоплодные воды, но и смешанные с ними секреты и экскреты желез и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Нутриенты данного смешанного содержимого гидролизуются фетальными ферментами по принципу собственного пищеварения и ферментами околоплодных вод по принципу индуцированного аутолитического пищеварения. Продукты гидролиза – мономеры, димеры, даже полимеры, имеют трофогенную роль для плода, особенно для эпителиоцитов слизистой оболочки пищеварительного тракта, и совместно с морфогенетическими механизмами обеспечивают формирование функционально полноценного пищеварительного аппарата новорожденного [М.Г. Закс, В.Н. Никитин, 1975; Г.Ф. Коротько, 2014].

### **1.3. Собственное пищеварение плода**

С увеличением срока гестации нарастают морфофункциональные возможности пищеварительного тракта плода – развиваются пищеварительные железы и повышается их секреторная активность, в том числе ферментовыделение [Г.Ф. Коротько, 2010].

У плода имеется и полостное, и пристеночное пищеварение. Они сочетаны с внутриклеточным пищеварением. Все эти типы пищеварения в

разной мере комплексно реализуются по отделам пищеварительного тракта по принципу конвейера, осуществляя гидролиз и всасывание нутриентов. Моделируется пищеварительная деятельность постнатального периода, и прежде всего, первого его этапа, для которого характерна специальная форма питания – лактотрофия с присущими ей особенностями пищеварения [Г.Ф. Коротько, 2010].

С 16–20 недель гестации, когда морфологически сформирован пищеварительный тракт плода, становится возможным его собственное пищеварение, в котором реализуются пищеварительные функции: секреция, моторика, всасывание. У плода даже в конце периода гестации секреция слюнных желез минимальна. Слюна новорожденного вязкая, что обеспечивает повышения эффективности сосания. Хотя она и бедна гидролазами, но всё же в слюне присутствуют амилаза, мальтаза, липаза, протеазы, фосфатазы с измененными свойствами по субстратам и оптимальным величинам рН [Г.Ф. Коротько, 2014]. У плода с 9–12 недель гестации функционируют рефлекторно регулируемые механизмы сосания и глотания. Это позволяет плоду не только аспирировать, но и глотать околоплодные воды [J. Neu, N. Li, 2003]. Формирование данного моторного акта и сосания в антенатальный период чрезвычайно важно сразу же после рождения для молочного вскармливания ребенка [R. Blakelock et al., 1998].

Установлено наличие обкладочных клеток в слизистой оболочке желудка эмбриона человека на 9-ой неделе, главных клеток на две недели позже. Синтез желудочных ферментов начинается еще у эмбрионов. Невысокая протеиназная и липазная активности обнаруживаются в экстрактах слизистой оболочки желудка плодов. Секреция железами желудка кислоты, сначала молочной, затем соляной, нескольких видов фетальных изопепсиногенов у новорожденных имеет функциональное значение с проявлением их стимуляции [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996].

В литературе весьма ограничены сведения об экзосекреции поджелудочной железы плода человека. Признано, что она развивается медленнее, чем секреция тонкой кишки [Г.Ф. Коротько, 2013].

Кишечное пищеварение начинает формироваться в эмбриональном периоде и представлено достаточно полно, отражая принцип рекапитуляции пищеварительных функций [А. Lebenthal, Е. Lebenthal, 1999; Г.Ф. Коротько, 2010]. Доказано наличие раннего формирования ферментных систем тонкой кишки. Так, в слизистой оболочке тонкой кишки плода отмечено наличие дисахаридаз на 6–8 неделях. На 10-й неделе беременности в тонкой кишке выявлены активности сахаразы, мальтазы, изомальтазы, лактазная активность появляется с 12-й недели, активность дипептидаз – с 10–12 недели, липаз – с 10–14 недели. Энтеропептидазы активны в 30-ю неделю, они зависят от секреторной активности поджелудочной железы [Г.Ф. Коротько, 2009; Г.Ф. Коротько, 2014]. Это обеспечивает пристеночное (мембранное) и внутриклеточное пищеварение тонкой кишки.

В пищеварительный тракт его железами и кишечным эпителием выделяются десятки граммов белков и углеводов. Далее эти эндонутриенты гидролизуются, всасываются, а затем ассимилируются и метаболизируются тканями макроорганизма. Такая циркуляция нутриентов используется в эндогенном питании организма не только при голодании, но и в периодической натошковой деятельности системы пищеварения [Г.Ф. Коротько, 2014] одновременно с постпрандиальными процессами.

Моторная деятельность системы пищеварения плода исследована у человека недостаточно. Ранним проявлением моторики пищеварительного тракта плода являются процессы сосания и глотания околоплодных вод. У плодов последних месяцев гестации глотание хорошо выражено и регуляторно организовано. Благодаря морфологическими особенностями гортани и пищевода плода и новорожденного ребенка предотвращается попадание околоплодных вод, а затем молока, в воздухоносные пути [С.В. Бельнер, А.И. Хавкин, В.П. Новикова, 2015].

Содержимое желудка плода, образованное проглоченными околоплодными водами и небольшими объемами слюны и желудочного сока, переводится в кишечник слабыми сокращениями антродуоденального комплекса при низком тоне гастродуоденального перехода, еще недостаточно сформированного его сфинктера. С 15-недельного возраста плода из химуса, перешедшего из тонкой кишки, в толстой кишке начинает формироваться первородный кал – меконий, который отходит в течение первых суток после рождения ребенка. Обычно через одну неделю у ребенка устанавливается нормальный стул. В норме меконий в околоплодные воды не попадает благодаря высокому тону анального сфинктера и низкого гидростатического давления в полости толстой (в том числе прямой) кишки, из-за ее слабой моторной активности. Исследование состава мекония и его наличия в околоплодных водах имеет специальное диагностическое значение [В.Е. Радзинский, А.П. Милованов, И.М. Ордянец, 2004; Л.И. Ширина, В.К. Мазо, В.А. Тутелян, И.Я. Конь, 2009].

О всасывании содержимого кишечника у плода. Кишечные эпителиоциты плода обладают высокой пиноцитозной активностью. Названные причины определяют значительные размеры абсорбции питательных веществ различной молекулярной сложности из содержимого тонкой кишки плода [Л.И. Ширина, В.К. Мазо, В.А. Тутелян, И.Я. Конь, 2009]. Это имеет принципиальное значение как компонент амниотрофии аутолитического и собственного пищеварения плода.

У плода уже в первые недели гестации морфологически закладываются ауто- и паракринные структуры диффузной эндокринной системы. К 12-ой неделе антенатального периода индивидуального развития в тонкой кишке идентифицируются 13 типов эндокринных клеток. Отмечено нарастание содержания в слизистой оболочке тонкой кишки гастрина, секретина, мотилина, ГИП, ВИП, соматостатина, нейротензина, энтероглюкагона [А.М. Уголев, Н.М. Тимофеева, А.А. Груздков, 1986].



В литературе по антенатальному развитию системы пищеварения человека в кавычках и без них пишется о функциональной тренировке данной системы в результате заглатывания и дистального транзита околоплодных вод. Полагают, что при этом действительно, тренируются моторная, секреторная и абсорбционная функции органов и отделов системы пищеварения с целью последующей лактотрофии как типа питания в первый год постнатального периода индивидуального развития. Амниотрофия с аутолитическим и собственным, внутриклеточным и внеклеточным пищеварением актуальны, прежде всего, для трофического морфогенетического обеспечения пищеварительного тракта плода, а не для трофического снабжения и становления всего макроорганизма, так как калорийность околоплодных вод и низкое содержание в них нутриентов недостаточны для обеспечения пластических потребностей плода, состоящего в основном на трансплацентарном гематрофном питании. Гемотрофия и амниотрофия создают то, что мы назвали стартовым ферментным дигестивным потенциалом плода для обеспечения лактотрофии как первого постнатального типа питания новорожденного ребенка. В этой связи представляется целесообразным проанализировать технологию пищеварения в период естественного молочного вскармливания ребенка, роль и значение в нем сформированных в эмбриональный и фетальный периоды пищеварительных процессов, то есть стартового дигестивного потенциала, в сочетании с собственным и аутолитическим пищеварением новорожденного ребенка.

#### **1.4. Пищеварение в постнатальный период развития ребенка при лактотрофии и смешанном питании**

Период новорожденности представляет собой один из наиболее уязвимых периодов в жизни человека, особенно в отношении питания [А.А. Fanaroff,

R.Y. Martin, 2002; M.G. MacDonald, M.K. Seshia Mary, M.D. Mullett, 2005]. В этот период быстрого роста и развития существует высокая потребность в необходимых питательных веществах, а также в достаточном энергоснабжении. При рождении, с внезапным переходом от рациона с высоким содержанием углеводов у плода к рациону с высоким содержанием жира у новорожденного, жир становится основным источником энергии для растущего ребенка. В грудном молоке и в большинстве детских смесей 45–50 % всех калорий присутствуют в виде жира, хотя содержание жира составляет всего 3,5–4,0 % [L. Hambraeus, 1977]. Молочное вскармливание ребенка – чрезвычайно важный период его жизни, а молоко – продукт секреторной деятельности молочных желез матери – уникальный продукт питания ребенка, обладающий необходимыми для него пластическими и энергическими веществами, витаминами, ферментами, минеральными солями, средствами иммунной защиты, физиологически активными веществами и даже микроорганизмами-симбионтами, важными в формировании микробиоты кишечника [Л.И. Тутченко, 2013; M. Armand et al., 1996; M. Namosh, 2002]. Немногие другие аспекты питания и метаболизма имеют большее биологическое значение, чем кормление грудью новорожденных, а также младенцев и маленьких детей [Т.Г. Авдеева и соавт., 2009; P.J. Reeds et al., 2000]. Пищевые факторы в раннем развитии не только оказывают кратковременное влияние на рост, состав тела и функции организма, но также оказывают долгосрочное влияние на здоровье, болезни и смертность в зрелом возрасте. Это явление называется «Метаболическое программирование». Взаимодействие питательных веществ и экспрессия генов могут составлять основу многих из этих программных эффектов [B. Koletzko, et al., 1998]. Грудное вскармливание в течение 6 месяцев имеет много преимуществ для младенца и матери. Главным из них является защита от желудочно-кишечных инфекций, которая наблюдается не только в развивающихся, но и в промышленно развитых странах. Раннее начало грудного вскармливания в

течение 1 часа после рождения защищает новорожденного от заражения инфекцией и снижает смертность новорожденного. Грудное вскармливание, и особенно раннее и исключительно грудное вскармливание, является одним из наиболее важных способов улучшения показателей выживаемости детей [M.J. Sankar, 2015]. Поэтому раннее лишение новорожденного ребенка материнского молока вызывает стресс, и не может в полной мере быть компенсировано искусственным вскармливанием. Важность грудного вскармливания в странах с низким и средним уровнем дохода общепризнана. За редким исключением продолжительность грудного вскармливания в странах с высоким уровнем дохода короче, чем в странах с ограниченными ресурсами. Мета-анализы показали роль грудного вскармливания в защите от неправильного прикуса [K.G. Peres et al., 2015], повышении интеллекта [Horta B.L., 2015], снижении вероятности избыточного веса и развития диабета [F. Savino, 2013]. Данные, полученные за последнее десятилетие, расширяют известные преимущества грудного вскармливания для женщин и детей [B.L. Horta, C.G. Victora, 2013; C.G. Victora et al., 2016]. Всемирная организация здравоохранения рекомендует, чтобы грудные дети были исключительно на грудном вскармливании в течение первых шести месяцев жизни.

Эволюционное развитие создало молоко как продукт питания, адаптированный к возможностям усвоения и потребностям родившегося ребенка. Это определило специфику пищеварения при лактотрофии, что учтено в теориях сбалансированного и адаптированного питания. Известно, что у новорожденных еще не сформированы пищеварительные железы и их экзосекреция [J. Neu, 2007], а, следовательно, и полостное пищеварение в желудочно-кишечном тракте. Поэтому оно происходит внутриклеточно и внеклеточно по типу пристеночного гидролиза нутриентов в тонкой кишке. Немаловажно, что ряд нутриентов молока транспортируется из полости тонкой кишки без их ферментной деградации. При этом сохраняются их свойства иммунной защиты [А.М. Уголев, 1985]. Однако, существует

недооценка описанных выше итогов фетального становления пищеварительных процессов и аутолитического пищеварения при лактотрофии. Поэтому представляет интерес анализ литературы по технологии пищеварения при лактотрофии по трем основным нутриентам: липидам, протеинам и углеводам с указанием возможной роли в данной технологии стартового ферментного дигестивного потенциала, сформированного в фетальный период развития, а также аутолиза нутриентов материнского молока его же гидролазами по принципу полостного пищеварения и его завершения в тонкой кишке с участием развитых внутриклеточного и пристеночного пищеварения. Принципиально, что с первых часов жизни вскармливается грудное молоко матери, нутриенты которого гидролизуются ферментами разного происхождения в сочетанном собственном и аутолитическом полостном и пристеночном пищеварении [В.П. Дегтярев, Т.В. Дегтярева, 1966; Г.Ф. Коротько, 2018].

## **1.5. Биохимические характеристики основных компонентов ранних этапов питания и пищеварения новорожденных**

### **1.5.1. Грудное молоко**

Молочная железа была ключевым элементом в эволюционной и таксономической классификации видов, и даже сыграла свою роль в принятии эволюционной теории. Наличие и секреторная способность молочной железы послужили основой для таксономической группировки видов в класс млекопитающих [A.V. Caruso, R.M. Akers, 2009]. Молоко представляет собой уникальный филогенетически сформированный сложноорганизованный продукт молочных желез, вырабатываемый под влиянием генетически контролируемой нейрогормонально-регуляторной лактации у млекопитающих [И.Н. Скидан, С.В. Бельмер, 2018]. Развитие компьютерных технологий изучения биологической информации, ознаменовалось появлением большого

количества работ, изучающих женское молоко с позиции эпигенетической модификации генома. Показано, что женское молоко способно прямо или опосредованно определять направление метаболического и иммунного программирования, определяя оптимальный профиль экспрессии генов и направленность процессов в организме ребенка, формируя положительные коротко- и долговременные последствия для его последующей жизни [E. Verduci et al., 2014; B.C. Melnik, G. Schmitz, 2017; F. Indrio et al., 2017]. Исследования протеомики, липидомики, гликомики, метаболомики грудного молока, которые в контексте оптимального питания и здоровья ребенка дают возможность идентифицировать в молоке новые биологически активные (функциональные) компоненты и создавать ориентиры для последующего совершенствования рецептур детских адаптированных смесей для искусственного вскармливания. Принципиально новые оценки роли молока, подчеркивают, что диаду мать–ребенок необходимо рассматривать как систему питания. Понимание этой эволюционно совершенной системы питания может обеспечить рациональное и оптимальное питание людей всех возрастов и всех состояний здоровья.

Материнское молоко нужно рассматривать с позиций его динамической природы, компонентного разнообразия, содержания питательных веществ и биологически активных факторов, необходимых для здоровья и развития ребенка [M.C. Neville, 2000]. Его состав варьируется в зависимости от стадии лактации и между доношенными и недоношенными детьми [D.C. Dallas, J.B. German, 2017; Г.Ф. Коротько, 2018]. Признание динамической изменчивости грудного молока (ГМ) имеет важное значение для управления кормлением материнским молоком. ГМ содержит несколько макромолекулярных компонентов с отличительными функциями, в которых молочные жировые глобулы и мицеллы казеина в основном обеспечивают питание новорожденного, а сыворотка содержит молекулы, которые могут стимулировать развивающуюся иммунную систему новорожденных и

желудочно-кишечный тракт [M.J. van Herwijnen et al., 2016]. Женское грудное молоко уникально подходит для детей, как по своему питательному составу, так и по не питательным биологически активным факторам, которые способствуют выживанию и здоровому развитию, включая факторы роста, гормоны и иммунологические факторы, такие как хемокины и цитокины с различными физиологическими эффектами [O.T. Oftedal, 2012; R.A. Vass et al., 2019]. Доказано, что эти биологически активные молекулы защищают новорожденного от различных инфекций, поражающих дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт и играют важную роль в приобретении иммунокомпетентности [X. Gao et al., 2012; S. Moossavi, K. Miliku et al., 2018]. Помимо иммунологических эффектов они способствуют органогенезу и играют важную роль в развитии и адекватном функционировании нервной, желудочно-кишечной и сердечно-сосудистой систем [O. Ballard, A.L. Morrow, 2013].

Состав молока (лактом) обычно описывается как смесь макромолекулярных компонентов, которые включают клетки, глобулы молочного жира, мицеллы казеина и сыворотку [O. Ballard, A.L. Morrow, 2013; P.C. Pereira, 2014; N.J. Andreas et al., 2015]. Эти основные компоненты часто подразделяются на пищевые компоненты и функциональные компоненты [T. Gura, 2014]. Основными питательными компонентами являются глобулы молочного жира, которые являются основным источником липидов и казеины, которые обеспечивают большую часть белка. Функционально биоактивные свойства в основном распределяются на фракцию сыворотки, которая содержит углеводы (лактоза и олигосахариды), витамины, минералы, пищеварительные ферменты, гормоны, противомикробные белки и иммуномодулирующие факторы. Меньше внимания уделяется клеточной природе грудного молока, которое содержит от тысяч до миллионов материнских клеток на каждый миллилитр, попадающий в организм ребенка. Использование многомерного подхода к исследованию клеток человеческого грудного молока позволило идентифицировать в нем присутствие лейкоцитов, эпителиальных клеток

различных стадий развития, которые включают, лактоциты и миоэпителиальные клетки [F. Hassiotou et al., 2013] и гетерогенную популяцию клеток с неясными физиологическими функциями и последствиями для здоровья [M. Witkowska-Zimny, E. Kaminska-El-Hassan, 2017].

Технологические достижения в области анализа отдельных клеток привели к прорывному открытию стволовых клеток в грудном молоке множественного происхождения, которые передаются потомству во время кормления грудью, что имеет многочисленные последствия как для здоровья младенцев [F. Hassiotou, P.E. Hartmann, 2014]. Известно, что количество, фенотип и экспрессия стволовых клеток грудного молока варьируют, и они способны дифференцироваться во все 3 зародышевых слоя (выражая плюрипотентные характеристики). Материнские стволовые клетки, как считается, участвуют в развитии ребенка [C.E. Briere, 2016].

Помимо хорошо описанных макромолекулярных структур, грудное молоко содержит внеклеточные везикулы (EV) [C. Admyre et al., 2007]. EV были идентифицированы в ГМ, но их физиологическая функция и состав не были подробно рассмотрены. EV представляют собой липидные двухслойные закрытые структуры субмикронного размера, высвобождаемые клетками для межклеточной коммуникации посредством избирательно включенных липидов, нуклеиновых кислот и белков. [M.H.M. Wauben, 2016]. Хотя для EV, полученных из человеческого молока, были идентифицированы некоторые микроРНК и белки [C. Admyre et al., 2007; Q. Zhou, M. Li, X. Wang, 2012], отсутствует подробная характеристика EV, полученного из молока.

Полагают, что EV, входящие в состав ГМ, являются его отдельным биоактивным компонентом. Это исследование показывает, что молоко содержит гораздо больше различных белков, чем ранее известно, и что значительное количество этих белков связано с EV. Во всех образцах EV, полученных из молока, были идентифицированы трансмембранные или липид-связанные внеклеточные белки (тетраспанины, флотиллин 1, антигены CD9,

CD63 и CD81,) и цитозольные белки (аннексины, синтенин-1 и связанные с Ras белки) [M.J. van Herwijnen et al., 2016]. Белки, идентифицированные в EV, полученные из молока, участвуют в регуляции роста клеток и контролируют воспалительные сигнальные пути, предполагая, что эти внеклеточные везикулы, могут поддерживать развитие желудочно-кишечного тракта и иммунной системы новорожденного. Эти данные иллюстрируют, что полученные из молока EV являются макромолекулярными компонентами с уникальным функциональным протеомом.

Небольшие некодирующие РНК, так называемые микроРНК, были обнаружены в большом количестве и разнообразии в молоке и тканях молочных желез млекопитающих. Эти биологические структуры присутствуют не только в свободной форме в жидкой части молока, но и входят в состав экзосом, клеток, а также мембран жировых глобул молока (МЖГМ) [M. Alsaweed et al., 2015]. По некоторым данным, количество различных микроРНК в ГМ приближается к 1,5 тысячам. МикроРНК являются ярким примером участия ГМ, в частности его жировой составляющей, в регуляции экспрессии генов в организме ребенка [M. Alsaweed et al., 2015; O. Karlsson et al., 2016].

В первые дни лактации молочные железы выделяют молозиво, затем переходное и в последующие дни – зрелое молоко. Молозиво характеризуется высоким содержанием белка (5,5 %), в том числе казеина (2,0 %), лактальбумина и глобулина (3,5 %), примерно равное со зрелым молоком содержание липидов (3,2–3,5 %) и более низкое – лактозы (в молозиве – 5,7 %). Молозиво, вырабатываемое в небольших количествах в первые несколько дней после родов, богато иммунологическими компонентами, такими как секреторный IgA, лактоферрин, лейкоциты, а также факторами развития, такими как эпидермальный фактор роста [J.K. Kulski, P.E. Hartmann, 1981; W.W. Pang, P.E. Hartmann, 2007]. Молозиво также содержит относительно низкие концентрации лактозы, что указывает на то, что ее основные функции



скорее иммунологические и трофические, чем пищевые. Среднее содержание макронутриентов в зрелом молоке составляет примерно в 0,9–1,2 г/дл для белка, от 3,2 до 3,6 г/дл для жира и от 6,7 до 7,8 г/дл для лактозы. Оценки энергии колеблются от 65 до 70 ккал/дл и тесно связаны с содержанием жира в грудном молоке [A. Prentice, 1995]. Жир и лактоза, соответственно, обеспечивают 50 % и 40 % общей энергии молока [M. Guo, 2014]. Состав питательных макронутриентов при неполном сроке гестации различается у женщин с недоношенной и доношенной беременностью, при этом имеет тенденцию к увеличению содержания белка и жира.

### **1.5.2. Белки и пептиды в составе грудного молока**

Основная роль молока, которая является общепризнанной, заключается в обеспечении новорожденных питательными веществами с высоким содержанием ценных белков. Исследования за последнее столетие подтвердили, что молоко содержит тысячи белков и пептидов, многие из которых имеют идентифицированное действие, от антибактериального до иммуномодулирующего. Эти компоненты присутствуют в молоке вследствие их продукции эпителиальными клетками молочной железы, активного или пассивного транспорта из крови или секреции иммунными клетками хозяина. Белки ГМ делятся на сывороточные и казеиновые фракции или комплексы, каждый из которых состоит из множества специфических белков и пептидов [Y. Liao et al., 2011; X. Gao et al., 2012]. Основными сывороточными белками являются альфа-лактальбумин, лактоферрин и секреторный IgA. Другие белки включают лизоцим, фолат-связывающий белок, липазу и амилазу, альфа-1-антитрипсин и антихимотрипсин и гаптокоррин [M. Guo, 2014]. Данные из 38 опубликованных исследований протеинов молока были объединены для того, чтобы построить общий протеом молока, который состоит из 2698 уникальных белков. Помимо цельного молока и обезжиренного молока, широко распространены протеомы мембран глобулы молочного жира (МЖГМ), казеина и сыворотки.

Более поздние данные показывают, что человеческое молоко содержит больше различных белков, чем было ранее известно и теперь с учетом протеома внеклеточных везикул в составе общего протеома молока идентифицирован 3331 уникальный белок [M.J. van Herwijnen et al., 2016]. Наиболее распространенными белками являются казеин,  $\alpha$ -лактальбумин, лактоферрин, секреторный иммуноглобулин IgA, лизоцим и сывороточный альбумин [B. Lonnerdal, 2004]. Утверждается, что протеом ГМ – это не простая смесь белков. Молочные белки взаимодействуют друг с другом, образуют надмолекулярные комплексы и катализируют различные процессы – гидролитические, синтетические и обменные реакции. Недавно было показано [S.D. Nielsen, R.L. Beverly, M.A. Underwood, 2018], что ГМ содержит стабильный супрамолекулярный белковый комплекс, состоящий из молекул лактоферрина,  $\alpha$ -лактальбумина, молочного альбумина,  $\beta$ -казеина, IgG и sIgA. Биологическая роль молочных белков и белковых комплексов очень разнообразна: молочные белки могут гидролизовать чужеродную (вирусную, бактериальную) ДНК и олигосахариды антигенных эпитопов, а диетические белки молока (казеин) могут увеличивать разнообразие комбинаций антигенсвязывающих сайтов в одной молекуле и регулировать иммунный ответ ребенка. [S.E. Sedykh, V.N. Buneva, G.A. Nevinsky, 2016]. Протеомный анализ обнаружил различия в белках, содержащихся в молоке на разных стадиях лактации, а также различия между доношенным и недоношенным молоком [D.J. Palmer et al., 2006; W.E. Corpeleijn et al., 2011]

Идентификация молочных белков и белков, связанных с молочной железой подтверждает гипотезу о том, что лактация эволюционировала, чтобы максимально эффективно способствовать выживанию пары «мать-потомство». [D.G. Lemay et al., 2009]. Наиболее отличающиеся белки в лактоме это белки с питательными или иммунологическими свойствами, что предполагает постоянный отбор кодирующих их генов для решения проблем питания и защиты от патогенов, которые возникают в различных средах и в

репродуктивных стратегиях. Наиболее консервативными являются гены белков белково-липидных мембран необходимых для секреции молочного жира.

Молочные белки являются сложным и разнообразным источником биологически активных факторов, являясь носителем зашифрованных функциональных последовательностей, которые при высвобождении в виде пептидов выполняют биологические функции, в том числе антимикробные, иммуномодулирующие, морфогенетические и многие другие [P. Ferranti et al., 2004]. Показано, что высвобождение этих функциональных пептидов начинается внутри самой молочной железы под действием сложного набора протеаз, присутствующих и проявляющих энзиматическую активность в материнском молоке. Сообщалось, что пептидом ГМ содержит более 1100 уникальных пептидов, полученных в результате гидролиза молочного белка в молочной железе [S.D. Nielsen, R.L. Beverly, D.C. Dallas, 2017]. В более позднем исследовании из той же лаборатории представлены данные об идентификации 3399 пептидов образовавшихся из белков ГМ [S.D. Nielsen et al., 2018]. Продемонстрировано, что разнообразие и содержание пептидов в «нативном» молоке, то есть до его потребления ребенком, быстро возрастает в содержимом желудка, в котором два часа инкубировалось данное молоко, а затем было аспирировано [D.C. Dallas et al., 2014]. Авторы свидетельствуют о большой роли протеаз грудного молока и желудочно-кишечных секретов ребенка в образовании сотен регуляторных пептидов. Однако при этом не учитывается, что существенный вклад в пептидный спектр содержимого желудка вносит пептидом слюны, состоящий из более 2000 идентифицированных пептидов [С.А. Колесов, Э.Н. Федулова, А.Е. Лаврова, 2016].

На основании данных пептидомики было предсказано, что плазмин является молочной протеазой, наиболее активной в гидролизе белков ГМ в молочной железе. Молочные протеазы активно расщепляют молочные белки внутри молочной железы, инициируя высвобождение функциональных пептидов. Таким образом, ребенок, находящийся непосредственно на грудном

вскармливания, получает частично предварительно переваренные белки и многочисленные биологически активные пептиды [S.D. Nielsen, R.L. Beverly, D.C. Dallas, 2017]. Конкретные пептиды образуются в определенное время в определенных участках молочной железы кормящей женщины и кишечного тракта ребенка благодаря белковым структурам молока, присутствующим в нем ферментам и способности ребенка активировать эти ферменты. Пептидом ГМ чрезвычайно обширен и его детальная характеристика не является задачей данного обзора. В этой связи мы ограничимся лишь упоминанием основных функциональных групп присутствующих в ГМ пептидов. По данным фундаментальных обзоров, посвященных биологически активным факторам ГМ [O. Ballard, A.L. Morrow, 2013; D. Dallas et al., 2013; B. Lonnerdal, 2016; R.A. Vass et al., 2019] к числу основных биологически активных факторов относят цитокины, ингибиторы цитокинов, факторы роста, гормоны, антимикробные факторы, олигосахариды и гликаны [D.C. Dallas et al., 2011], метаболические факторы, муцины, специфические факторы иммунологической защиты. В качестве примера обозначим некоторые из них: эпидермальный фактор роста (EGF), уровень которого в молозиве в 2000 раз выше, чем в материнской сыворотке, и в 100 раз выше, чем в переднем молоке, участвующий в дифференцировке и пролиферации энтероцитов [B. Dvorak et al., 2004], цитокины: растворимый кластер дифференцировки лиганда 40 (CD40) и FMS-подобный лиганд тирозинкиназы 3 (Flt-3L); и хемокины: моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1), воспалительный белок макрофага-1бета (MIP-1 $\beta$ ), хемокин, полученный из макрофагов (MDC), онкоген с регулируемым ростом (GRO), эотаксин и фракталкин, которые играют важную роль в модуляции иммунных ответов и регуляции миграции иммунных клеток [A. Mantovani, 1999; T. Spoettl et al., 2006]. Flt-3L отвечает за пролиферацию клеток-предшественников гемопоэтических стволовых клеток [S.D. Lyman et al., 1994]. Фракталкин и эотаксин участвуют в нейрогенезе и развитии синаптической пластичности [S.A. Villeda et al., 2011; G.K. Sheridan

et al., 2014]. Доказано наличие в ГМ биоактивных бета-казеиновых пептидов бета-казоморфинов-8, -9, -10 и -11, отвечающих структурным требованиям, предъявляемым к регуляторным факторам опиоидной, иммуномодулирующей, антиоксидантной и аппетит регулирующей функциям у новорожденных [А.К. Enjaroori et al., 2019].

### **1.5.3. Липиды в составе грудного молока**

Молочный жир является одним из наиболее представленных и интересных компонентов женского молока. ГМ имеет сложную липидную архитектуру [J.J. Basch, R. Greenberg, H.M. Farrell, 1985], которая образует особую биологическую коллоидную систему [C. Garcia, S. Innis, 2013]. Жир ГМ является одним из наиболее сложных по составу натуральных жиров, состоящим более чем из 400 индивидуальных жирных кислот и их изомеров. Практически весь жир ГМ (> 98 %) представлен в форме триглицеридов. Триглицериды (ТГЦ) молока млекопитающих, включая человека, структурированы в липидные частицы округлой формы со средним диаметром примерно 3–15 мкм – так называемые жировые глобулы молока [S. Gallier et al., 2015]. Глобулы жира окружены снаружи тонкой трехслойной оболочкой, которая в научной литературе обозначается термином «мембрана жировой глобулы молока» (МЖГМ) [M.C. Michalski et al., 2002]. Внутренняя монослойная мембрана происходит из эндоплазматического ретикулума, а наружный бислой – из апикальной плазматической мембраны. Биологически активные факторы находятся в цитоплазматическом слое; таким образом, они защищены при переходе через желудочно-кишечный тракт. Содержимое глобулы молочного жира способно напрямую влиять на состав микробиоты или колонизацию кишечника, а также всасываться в системный кровоток [C. Lopez, 2011; K.E. Gregory et al, 2016]. Полагают, что МЖГМ, в том числе, обеспечивает определенные преимущества и защиту детей, улучшая их соматические показатели здоровья [O. Ballard, A.L. Morrow, 2013; S. Gallier

et al., 2015; V. Delplanque et al., 2015]. Несмотря на свои незначительные размеры (толщина поперечного сечения от 10 до 20 нм) МЖГМ представляет собой сложный комплекс белков, фосфолипидов, гликопротеинов, гликолипидов, холестерина. Считается, что интегральные и периферические белки МЖГМ составляют 1–2 % от белков ГМ. На долю белков приходится до 70 % от общей массы МЖГМ. Всего в МЖГМ был идентифицирован 191 белок [Y. Liao et al., 2011]. Основными белками МЖГМ являются ксантиноксидаза, адипофилин (связывающий жирные кислоты белок) и гликопротеины, в том числе муцин, лактадгерин, бутирофилин, CD36 [И.Н. Скидан, А.Е. Гуляев, К.С. Казначеев, 2015]. Преобладающим белком на долю которого приходится до 40 % от всех белков МЖГМ является бутирофилин.

Молочный жир и лактоза являются основными источниками энергии для детей, находящихся на естественном вскармливании. На их долю приходится примерно 50 и 40 % энергии соответственно. Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA), обобщив имеющиеся данные, определяет среднюю величину общего жира ГМ в диапазоне от 24 до 59 г/л или 3,7–9,1 г/100 ккал [EFSA NDA Panel, 2014]. Энергетическая плотность ГМ составляет примерно 65 ккал/100 мл. С молочным жиром ребенок, находящийся на естественном вскармливании, получает важнейшие вещества, необходимые для становления структур желудочно-кишечного тракта, головного мозга, сетчатки глаз, а также оптимального метаболического и иммунного программирования. Жир в ГМ характеризуется высоким содержанием пальмитиновой и олеиновой кислот: первая сконцентрирована во 2-положении, а вторая – в 1- и 3-положении триглицеридов. Пальмитиновая кислота принимает участие во многих процессах в организме человека, в том числе в обмене веществ, формировании структур клеточных мембран, функционировании секреторных и транспортных липидов, пальмитировании белков и

сигнальных молекул [E.A. Miles, P.C. Calder, 2017; H. Demmelmair, V. Koletzko, 2018]. Эта жирная кислота является примером того, как стереоспецифическая позиция жирных кислот в молочном жире влияет на его функциональные свойства.

Зрелое ГМ содержит: 34–47 % насыщенных жирных кислот, 31–43 % мононенасыщенных жирных кислот, 12–26 %  $\omega$ -6-ПНЖК (полиненасыщенных жирных кислот) и 0,8–3,6  $\omega$ -3-ПНЖК [V. Delplanque et al., 2015]. Основой состава жирных кислот ГМ являются каприновая, лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты, уровни которых подвержены значительным колебаниям среди лактирующих женщин и зависят прежде всего от степени зрелости молока и диеты матери [EFSA NDA Panel, 2014; V. Koletzko, 2016; H. Demmelmair, V. Koletzko, 2018]. Кроме ТГЦ, женское молоко содержит холестерин и фосфолипиды (ФСЛ), в основном в составе МЖГМ. Молочный жир является источником эссенциальных жирных кислот, таких как линолевая и  $\alpha$ -линоленовая, известных основателей двух больших семейств ПНЖК – омега-6 ( $\omega$ -6) и омега-3 ( $\omega$ -3) соответственно [EFSA NDA, 2014]. Кроме этого, ГМ содержит промежуточные (в т.ч. эйкозапентаеновую кислоту), и, что еще более важно, конечные продукты сложной биотрансформации эссенциальных жирных кислот – длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты такие как арахидоновая и докозагексаеновая. Биологические эффекты у этих жирных кислот многогранны и реализуются как на клеточном, так и на органном уровнях. Они служат важнейшим субстратом для структурного и функционального развития нервной системы (в т.ч. стимулируют нейрогенез, синаптогенез, миграцию нейронов, участвуют в процессе миелинизации нервных волокон) и зрительного анализатора (в т.ч. фоторецепторов сетчатки) [V.F. Labrousse et al., 2012; H.F. González, S. Visentin, 2016]. По данным ряда авторов, фосфолипиды, входящие в состав МЖГМ, составляют от 0,2 до 1 % (от 100 до 400 мг/литр) от общего количества молочного жира [F. Giuffrida et al.,

2013; EFSA NDA Panel, 2014]. Их можно разделить на два основных класса: глицерофосфолипиды и сфинголипиды. Отмечают разницу в их соотношении между молозивом и зрелым ГМ [J. Vitman et al., 1984]. По результатам рангового анализа ФСЛ в зрелом ГМ их типы можно представить в следующем порядке (по мере убывания в %): сфингомиелин (36–42), фосфатидилхолин (25–28), фосфатидилэтаноламин (17–23), фосфатидилсерин (7–10) и фосфатидилинозитол (4–7) [F. Giuffrida et al., 2013]. Общее количество ФСЛ в женском молоке – 23,8 мг/100 г, что соответствует норме среднего потребления ФСЛ 140 мг/день ребенком 4-недельного возраста, находящимся на исключительно грудном вскармливании [F. Giuffrida et al., 2013]. От 60 до 70 % ФСЛ молока находится в составе МЖГМ и сосредоточены в основном во внешнем контуре мембраны с долей так называемых полярных липидов примерно 40 % от общего количества липидов МЖГМ [G. Contarini, M. Povolò, 2013]. Интерес к этим полярным молекулам чрезвычайно высок из-за их широкого спектра активности и вовлеченности в различные вне- и внутриклеточные процессы, протекающие в организме человека. Полагают, что глицерофосфолипиды являются компонентами ГМ, способными эффективно взаимодействовать с клеточной мембраной, изменять ее состав и, вероятно, липидную микроструктуру, влиять на клеточную пролиферацию и апоптоз, а также ферментативную активность в организме человека [D. Küllenberg et al., 2012]. ГМ является естественным источником ганглиозидов для новорожденных. В литературе описаны четыре основных вида ганглиозидов ГМ, а именно GM1, GM2, GM3 и GD3, из которых наиболее представительными являются GM3 и GD3, составляя 28 и 32 % соответственно [X.L. Pan, T. Izumi, 2000]. Жир является наиболее изменчивым макроэлементом молока. Концентрация молочного жира в заднем молоке, которое поступает в конце кормления, может в два-три раза превышать концентрацию молочного жира в переднем молоке, поступающим в начале кормления [T. Saarela, J. Kokkonen, M. Koivisto, 2005]. ГМ, вырабатываемое для недоношенных детей



содержит примерно на 30 % больше жира, чем в ГМ, предназначенном для доношенных детей [B. Delplanque et al., 2015].

Секретируемые эпителием молочной железы глобулы молочного жира содержат пул различных мембраносвязанных белков и липидов которые являются источником множество биологически активных компонентов материнского молока [M. Cavaletto, M.G. Giuffrida, A. Conti, 2004]. Глобула молочного жира содержит муцины (MUC1, MUC4 и, возможно, другие), полученные из материнской плазматической мембраны. Эти муцины являются многофункциональными, но самое главное, защищают детей от инфекции. Так, MUC1 блокирует заражение ВИЧ и ротавирусами [R.H. Yolken et al., 1992; E. Saeland et al., 2009], а MUC1 и MUC4 блокируют заражение *Salmonella enterica serovar typhimurium* и вирусом Norwalk [N. Ruvoen-Clouet et al., 2006; B. Liu et al., 2012].

#### **1.5.4. Ферменты грудного молока**

В ГМ выявлено более 40 ферментов. В их числе идентифицированы энзимы участвующие в биосинтезе компонентов молока молочной железой (например, монопротеинлипаза, фосфоглюкомутаза, синтетаза жирных кислот, лактозосинтетаза), ферменты участвующие в реализации транспортных процессов (ксантиноксидаза, глутатионпероксидаза, щелочная фосфатаза), ферменты задействованные в антибактериальных и противовирусных эффектах (например, лизоцим, пероксидаза, липопротеинлипаза). Особое внимание уделяется гидролазам ГМ, которые обеспечивают молекулярную деградацию нутриентов молока. К ним относятся: липазы, карбогидразы, протеазы [K.M. Shahani, 1966; Г.Ф. Коротько, 2018]. Многие из этих ферментов функционируют в процессе продукции молока. Так, липопротеинлипаза [N.R. Mehta, J.B. Jones, M. Hamosh, 1982] регулирует поглощение циркулирующих липопротеинов триглицерид-жирных кислот и холестерина [M. Hamosh, P. Hamosh, 1983] лактирующей молочной железой и тем самым

контролирует количество и качество молочного жира [M. Hamosh, J. Bitman, 1992]. Однако роль этого фермента у новорожденного не выяснена. Напротив, желчезависимая липаза и амилаза [J.B. Jones, N.R. Mehta, M. Hamosh, 1982], как было показано, функционируют у кормящегося ГМ ребенка [B. Fredrikzon et al., 1978], где они компенсируют незрелую функцию его поджелудочной железы.

Известно, что экзопептидазы цитозоламинопептидаза и карбоксипептидаза В2, присутствующие в молоке [V. Demers-Mathieu et al., 2017], являются значимыми участниками переваривания молочного белка [D.C. Dallas et al., 2015]. Ряд гидролаз участвует в деградации белков внеклеточного матрикса и ремоделировании тканей (коллагеназы). Молоко содержит констелляцию компонентов различных протеолитических систем: зимогены, активные протеазы, ингибиторы протеаз и активаторы протеаз, которые поступают частично из крови, частично из эпителиальных клеток молочной железы и частично из-за секреции иммунных клеток [T.A. Holton, et al., 2014; D.C. Dallas, N.M. Murray, J. Gan, 2015]. Протелитическая система плазмина, включающая пламиноген, плазмин, активаторы и ингибиторы, участвует в гидролизе белков молока (особенно  $\beta$ -казеина) и лизисе тканей железы при их инволюции. В ГМ присутствуют катепсиновая и эластазная системы протеаз, а также системы пепсиногена, трипсиногена и химотрипсина [T.A. Holton et al., 2014; D.C. Dallas, N.M. Murray, J. Gan, 2015; Г.Ф. Коротько, 2018]. Основными ингибиторами протеаз в материнском молоке являются альфа-1-антихимотрипсин и альфа-1-антитрипсин. По данным иммуноанализа уровень альфа-1-антихимотрипсина в молозиве 1-го дня был выше, чем в нормальной сыворотке. Продемонстрировано наличие в молоке следовых количеств ингибитора альфа-трипсина, альфа-2-антиплазмина, альфа-2-макроглобулина, антитромбина III [T. Lindberg, K. Ohlsson, B. Westrom, 1982].

Существуют доказательства того, что гомогенный лактоферин молока человека обладает пятью различными ферментативными активностями: ДНКазы, РНКазы, АТФаза, фосфатаза и амилаза. Специфическое распределение

различных каталитических активностей среди фракций лактоферина может быть обусловлено различными типами их гликозилирования и/или фосфорилирования. Открытие каталитической активности лактоферина может способствовать пониманию множества физиологических функций этого чрезвычайно полифункционального белка и объяснить его защитную роль против микробных и вирусных инфекций [S.E. Sedykh, V.N. Buneva, G.A. Nevinsky, 2016]. К числу других активных ферментов молока относят амилазу, лактозосинтетазу и лактопероксидазу. ГМ содержит обширный пул гидролитических ферментов, включающий протеазы, липазы, карбоангидразы, фосфатазы и другие. Амилаза ГМ структурно идентична амилазе слюны, но имеет более широкий оптимум pH и сохраняет свою активность в желудке [T. Lindberg, G. Skude, 1982]. Существуют большие межиндивидуальные различия в концентрациях амилазы в ГМ, но были обнаружены связи с гестационным возрастом при рождении (у матерей, которые рожают преждевременно, самая высокая активность) [J.B. Jones, N.R. Mehta, M. Namosh, 1982] и способностью к деторождению (снижается с увеличением готовности к родам) [O. Dewitt, B. Dibba, A. Prentice, 1990]. Амилаза ГМ у человека обнаруживается в его самых высоких концентрациях в молозиве [J.B. Jones, N.R. Mehta, M. Namosh, 1982] и затем уменьшается в течение лактации [O. Dewitt, B. Dibba, A. Prentice, 1990]. С 15 по 90 день после родов в ГМ содержится больше амилазы, чем в дуоденальном соке у детей в возрасте от 1 до 6 месяцев. Низкая активность амилазы была обнаружена в молоке через 90 и более дней после родов [T. Lindberg, G. Skude, 1982]. В динамике многомесячной лактации амилолитическая активность молока достаточно круто снижается, особенно быстро такое снижение происходит, если содержание амилазы в молоке было высоким в первый-второй месяцы лактации матери [Г.Ф. Коротько, 2009]. Физиологические механизмы данного универсального, но разновыраженного по срокам, процесса пока не имеют объяснения.

Самое высокое содержание протеаз в молозиве первого дня лактации [И.И. Грачев, В.П. Галанцев, 1973]: пепсиноген  $51,6 \pm 6,4$  тир.ед./мл; трипсиноген –  $4,0 \pm 1,2$  миллиед./мл; антитрипсин –  $2,9 \pm 0,7$  миллиед./мл), на 6-ой день лактации соответственно:  $31,6 \pm 2,7$ ;  $1,3 \pm 0,3$  и  $1,5 \pm 0,5$ . В последующие сроки лактации в разной помесечной динамике содержание гидролаз в молоке понижается. При этом данное снижение тем круче, чем выше оно было в первый месяц лактации, но нарастает до полугода, если было низким в первый месяц лактации [Г.Ф. Коротько, 2016]. Также в динамике многомесячной лактации достаточно круто снижается амилолитическая активность молока. Особенно быстро такое снижение происходит, если содержание амилазы в молоке было высоким в первый-второй месяцы лактации матери [Г.Ф. Коротько, 2009]. Физиологические механизмы данного универсального, но разновыраженного по срокам, процесса пока не имеют объяснения. Данная саморегуляция гидролитической активности молока, открытая в лаборатории Г.Ф. Коротько, трактуется как аргумент в пользу актуальности процесса аутолиза нутриентов молока в лактотрофии, в отличие от другого мнения, по которому высокое содержание гидролаз в молозиве – результат еще не созревших контактов между лактоцитами грудных желез в первые дни лактации [О. Hernell, 2011], что способствует пассивному транспорту гидролаз в состав молока из крови лактирующей матери. Как процесс оптимизации протеолиза в лактотрофии рассматривается и факт повышения содержания трипсиногена в молоке первого месяца лактации (в 2,5 раза), если содержание в нем пепсиногена снижено. Это важный механизм обеспечения гидролиза казеина материнского молока по типу аутолитического пищеварения [Г.Ф. Коротько, У.М. Мирзакаримов, 2014].

## **1.6. Биохимические и физиологические аспекты индуцированной энзимами трансформации основных компонентов грудного молока у новорожденных**

### **1.6.1. Гидролиз белков**

Поступившее в результате сосания в полость рта ребенка грудное молоко смешивается со слюной, секреция которой рефлекторно стимулировалась, и из полости рта в результате рефлекса переводится в полость желудка. Казеин в желудке гидролизуется фетальными пепсинами, образовавшимися из фетальных пепсиногенов в слабокислой среде. рН желудочного содержимого новорожденного может быть слабоосновным или нейтральным из-за наличия в желудке околоплодных вод, или слабокислым (рН около 6). По А.И. Клиорину [А.И. Клиорин, 1977] рН секрета в первые 6–12 часов понижается до 1–2, затем в течение первой постнатальной недели достигает 4–6, к одному году снижается до 3–4. В ранний постнатальный период кислотность желудочного сока в большей степени обеспечивается не хлористоводородной кислотой, а молочной, так как париетальные клетки еще не способны синтезировать HCl. К концу первого года объем секреции (напряжение, скорость) достигает 1 мл/мин и рН секрета снижается. Секреция соляной кислоты железами желудка зависит от вида вскармливания ребенка [Р.М. Харькова, 1969]: она минимальна при естественном вскармливании, увеличивается при смешанном вскармливании примерно в 2 раза и еще более при искусственном (в 3–6 раз).

В желудочном соке ребенка, как и у взрослого человека, несколько изопепсинов, образовавшихся из нескольких изопепсиногенов. Отличительной особенностью их у новорожденных является наличие в секрете пепсиногенов, образующих изопепсины с высокой химазной активностью при рН 4–6. Эти изопепсины ранее и нередко сейчас называют химозином, но химозин – это протеиназа слизистой оболочки желудка телят, а не ребенка [Р.М. Харькова, 1969; А.И. Хавкин, 2003]. Показано, что у детей первых трех месяцев жизни снижена фитолитическая активность секрета, то

есть растительные белки расщепляются медленнее, чем казеин. Белки мяса (зоолитическая активность) практически не гидролизуются. Эта способность обнаруживается у ребенка 5–6 месячного возраста и нарастает к 7-и месяцам. Фитолитическая активность проявляется с 2–3 месяцев жизни, выражена с 4-х месяцев [Р.М. Харькова, 1968].

Низкая протеолитическая активность желудочного секрета новорожденных детей может иметь адаптивное защитное значение в сохранении иммунных свойств молока при молочном вскармливании, но она еще сильнее снижается при повышении кислотности в результате введения в питание ребенка прикорма [Р.М. Харькова, 1969; А.И. Хавкин, 2003].

Установлено повышение атакуемости казеина молока слюной для действия не только пепсина, но и трипсина [Г.Ф. Коротько, 2006]. Авторы объясняют это влиянием протеиназ слюны на казеин молока, в результате которого происходит уменьшение размеров хлопьев молока, что повышает скорость гидролиза казеина. Данный эффект слюны может рассматриваться как индукция пепсиногенов протеазами молока (индуцированный аутолиз или индуцированный аутопротеолиз) и фетальных пепсиногенов желудочными пепсинами. Гидролиз казеина совершается последовательно: за эндопептидазными эффектами пепсинов следует действие панкреатических экзопептидаз и пептидаз тонкой кишки [Г.Ф. Коротько, 2007; Г.Ф. Коротько, 2013], что является проявлением собственного пищеварения ребенка, потенциал которого заложен в антенатальный период индивидуального развития и может быть различным. И этот потенциал, в свою очередь, влияет на эффективность протеолиза в лактотрофии [Т.Р. Henderson et al., 2001]. При этом понятен акцент на нутритивную роль казеина.

Специфика и воспроизводимость переваривания молочных белков обеспечивает убедительное свидетельство сложной, но контролируемой деятельности этих протеолитических систем. Молочные протеазы выполняют гидролитическую функцию, помогая пищеварению ребенка и высвобождая функциональные пептиды. Другими словами, мать дает ребенку не только

нутриентные белки, но и средства для их переваривания. Показано, что гидролиз специфических белков молока происходит внутри самой молочной железы. Однако протеолиз в молоке контролируется балансом ингибиторов протеаз и активаторов протеаз, так что только небольшая часть белков молока переваривается в молочной железе [D.C. Dallas et al., 2013; D.C. Dallas, N.M. Murray, J. Gan, 2015]. В желудке ребенка протеолиз белков молока и высвобождение пептидов демонстрируют значительную селективность и специфичность. Показано, что ферменты, которые ответственны за эти процессы, это не ферменты ребенка, а ферменты самого молока [N. Khaldi et al., 2014]. Их действие на молочные белки обеспечивает образование большого количества пептидов [B. Lönnerdal, 2016]. Исследования подтверждают, что ферменты молока способствуют увеличению времени, избирательности и общего успеха усвоения белка у ребенка. Недавние исследования показали, что эти молочные протеазы продолжают переваривать молочные белки в желудке ребенка, возможно, даже в большей степени, чем его собственные протеазы. Поскольку у новорожденного относительно низкая пищеварительная способность, активность молочных протеаз у ребенка может оказать важную помощь в переваривании молочных белков [D.C. Dallas, J.V. German, 2017].

Контроль каталитической активности компонентов молока, в том числе протеаз представляется сложным и многофакторным, включая баланс ингибиторов, антител, зимогенов протеаз, pH и специфической структуры белков-субстратов [N. Khaldi et al., 2014]. Исследовали активность ферментов молока и их относительный вклад в переваривание молочного белка *in vivo*. Масс-спектрометрически идентифицированные фрагменты белка, обнаруженные в ГМ, сравнили с сайтами их расщепления и специфичностью ряда ферментов. Результаты показали, что несколько ферментов принимают активное участие в переваривании белков ГМ в молочной железе, включая плазмин и/или трипсин, эластазу, катепсин D, пепсин, химотрипсин, глутамилэндопептидазоподобный фермент и эндопептидазу пролина. Два белка были наиболее подвержены ферментативному гидролизу:  $\beta$ -казеин и рецептор

иммуноглобулина. Другие протеины молока, такие как  $\alpha$ -лактальбумин и лактоферрин, по-видимому, не подвергались протеолитическому расщеплению. Пептидная последовательность, содержащая известный антимикробный пептид, высвобождается в ГМ с помощью эластазы и катепсина D. Эта избирательность означает, что в естественных условиях некоторые из молочных белков остаются нативными, чтобы проявить свою биоактивность в организме ребенка, а другие являются источником отдельных специфических и потенциально функциональных пептидов, которые доставляются к сайтам вдоль кишечника ребенка. Эти пептиды имеют антимикробную, иммуномодулирующую и другие функции которые защищают ребенка от патогенов, направляют и способствуют успешному физиологическому развитию. Значение продуцирования этого сложного набора компонентов протеолитической системы ГМ дает представление о механизмах, с помощью которых поддерживается пищеварительный потенциал ребенка [D.C. Dallas, J.B. German, 2017; Г.Ф. Коротько, 2018]. Эти исследования подтверждают гипотезу о том, что молочные протеазы являются эволюционно обусловленным, полезным классом молочных компонентов, который способствует пищеварению у детей и высвобождает функциональные пептиды, влияющие в целом на здоровье. Поскольку у новорожденных и грудных детей пищеварительная способность ниже, чем у взрослых [М.Г. Закс, В.Н. Никитин, 1975], обилие и активность протеаз молока обеспечивают больший контроль над перевариванием самого молока.

Биохимиками и другими специалистами Ирландии и США исследовано значение протеаз ГМ и желудочного содержимого новорожденных детей [Т.А. Holton et al., 2014]. В этой работе подчеркнута малая изученность протеолиза молока в желудочно-кишечном тракте новорожденных. Хотя, несомненно, протеолиз молока имеет энергетическое, пластическое и регуляторное назначение (образование многих регуляторных пептидов). В данной работе учитывались образовавшиеся пептиды в результате протеолиза специфическими для желудочного содержимого и ГМ



протеазами. При этом исследованию подвергались две порции материнского молока: первая, полученная молокоотсосом и другая порция того же молока, введенного в желудок через назальный зонд, и затем (через 2 часа инкубации в желудке) аспирированного через тот же зонд. В результате сложной аналитической работы, сделано заключение об интеграции эффектов гидролитических протеиназ молока матери и эндогенных секреторных протеиназ ребенка. По этим результатам, эффекты пепсина и трипсина в желудке ребенка практически не изменялись или незначительно снижались (в 1,3 раза), а эффекты гидролаз молока увеличивались под влиянием секреторных гидролаз: по катепсину Д возросли в 2,3 раза; по пепсину – в 2,4; эластазе – в 1,6; химотрипсину – в 2,5; пролинэндопептидазам – в 1,3раза. Следовательно, аутопротеолиз молока (аутолитическое пищеварение белка молока его же протеазами) возрос под действием секреторных протеаз ребенка (то есть в результате собственного пищеварения), более чем в два раза по основным содержащимся в полости желудка протеазам накормленного ребенка. Эти факты свидетельствуют об актуальной интеграции эффектов протеиназ молока и секрета самого ребенка при грудном вскармливании (авторами это названо новой парадигмой). Данная парадигма имеет не только научную, но и прикладную значимость для неонатологии и педиатрии, в частности подчеркивает потребность актуализировать количественную характеристику потенциала протеолиза в начальной лактотрофии новорожденного [D.C. Dallas et al., 2014].

### **1.6.2. Гидролиз липидов**

Биодоступность липидных питательных веществ зависит от сложного процесса: расщепления липазами в желудке, а затем в кишечнике, поглощения энтероцитами и транспорта в различные клетки организма. Интерес к липолитической активности ГМ обусловлен достаточно высоким содержанием в нем липидов, играющих большую энергетическую и пластическую нутритивную роль в лактотрофии ребенка [T.W. Albrecht, H.O. Iaynes, 1955].

Кроме того, липиды молока обладают антибактериальными, антивирусными и антимикозными свойствами [М. Namosh, 2002], поэтому при вскармливании ребенка молоком с низким содержанием в нем липидов отмечены многие функциональные нарушения [А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук, 2003; Л.И. Ширина, В.К. Мазо, В.А. Тутелян, И.Я. Конь, 2009].

Технология липолиза многоступенчата: совершается предуоденальными липазами ротовой жидкости (слюнная и лингвальная) и желудочного секрета в полости желудка, затем липазами молока и панкреатического секрета в тонкой кишке при участии в роли индукторов солей желчных кислот (содействие эффекту липазы молока) и колипазы (содействие эффекту панкреатической липазы) [E.N. Frankel, N.P. Tarassuk, 1959; K.C. Chandan, K.M. Shahani, 1963].

Предуоденальные липазы принадлежат к семейству ферментов, которые способны сохранять каталитическую активность в кислой среде с общим оптимальным значением рН в диапазоне рН от 4,0 до 6,0 [H. Moreau et al., 1988]. У человека желудочная липаза идентифицирована как высокогликозилированный глобулярный белок массой около 50 кДа [M.W. Bodmer et al., 1987]. Этот фермент является кислотостойким и проявляет активность в широком диапазоне рН желудка человека (от 2,0 до 7,0) [Y. Gargouri et al., 1989; E. Ville et al., 2002]. Желудочная липаза колокализуется с пепсиногеном в главных клетках фундальных желез желудка [H. Moreau et al., 1988b; H. Moreau et al., 1989], где инициирует переваривание триацилглицеролов [M. Namosh, 1990; F. Carrière et al., 1993].

Лингвальная липаза, которая секретируется серозными железами языка и гидролизует средне- и длинноцепочные триглицериды до смеси частичных глицеридов (ди- и моноглицеридов), глицерина и свободных жирных кислот в желудке и желудочная липаза необходимы для переваривания молочного жира у новорожденного, потому что, в отличие от других пищеварительных липаз (панкреатической или липазы грудного молока), липазы язычных и желудочных желез могут проникать в глобулу молочного жира и инициировать

процесс пищеварения [M. Hamosh, 1990]. Поскольку лингвальная липаза активна в отсутствие солей желчных кислот и имеет низкий оптимум pH, она идеально подходит для действия в желудке новорожденных и, вероятно, компенсирует низкую активность липазы поджелудочной железы, а также может быть важна не только для усвоения пищевого жира, но и для преодоления временного дефицита солей желчных кислот и трансформации продуктов гидролиза жира для их абсорбции путем образования продуктов амфифильной реакции [M. Hamosh, 1990]. У кормящихся грудью детей усвоение триглицеридов молока и длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот катализируется совместным действием липазы желудка, колипазозависимой липазы поджелудочной железы и липазы, стимулированной желчной солью (BSSL). Большая часть BSSL присутствует в молоке, а меньшая часть происходит в экзокринной поджелудочной железе ребенка. Желудочная липаза играет важную роль в биодоступности липидов обеспечивая переваривание ТГЦ глобул молочного жира в желудке [O. Hernell, L. Bläckberg, 1994]. У новорожденных, имеющих временную недостаточность секреции поджелудочной железы, липаза желудка играет также активную роль в двенадцатиперстной кишке, где эффективность индуцируемого этим энзимом липолиза выигрывает от благоприятных локальных условий. Утверждается, что в условиях недостаточной экзокреторной функции поджелудочной железы желудочная липаза является основным липолитическим ферментом, присутствующим в организме [G. Favé, J. Peyrot, M. Hamosh, 2007]. Принципиальное значение в начальном липолизе триглицеридов ГМ имеет высвобождение этого нутриента из жировых глобул, мембрана которых недоступна для деградации ее липазами молока и панкреатического секрета [И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева, Е.А. Гордеева, 2016]. Липидные глобулы в составе молока в полости желудка ребенка «атакуются» липазами лингвальных желез, слюны и желудочного секрета, проникающими в глобулы благодаря своей гидрофобности. Эти липазы нарушают целостность самой мембраны,

компоненты которой признаны ценными для вскармливаемого малыша продуктами молока и в последнее время используются в качестве добавки к молочным смесям [О.Н. Комарова, А.И. Хавкин, 2016]. Как сказано выше, основной липолиз совершается в тонкой кишке, откуда его продукты всасываются в лимфу и кровь. При этом аутолиз липидов молока его липазой индуцируется лингвальной и гастральной липазами в липидной глобуле в широком диапазоне рН среды. Эти липазы в результате гидролиза триглицеридов образуют в основном диглицериды и жирные кислоты, панкреатическая липаза – моноглицериды и жирные кислоты, липаза молока – жирные кислоты и глицерин [В.А. Тутелян, И.Я. Конь, 2009]. В отличие от других гидролаз молока, содержание которых заметно снижается по месяцам лактации, содержание липазы в молоке в те же сроки снижается медленнее и даже в 9–10 месяцы лактации остается высокой [Г.Ф. Коротько, 2016].

В обзоре, посвященном биохимии пищеварения при молочном вскармливании ребенка [E.N. Frankel, N.P. Tarassuk, 1959; K.C. Chandan, K.M. Shahani, 1963; L. Poquet, T.J. Wooster, 2016] подчеркивается физиологическая многоплановая значимость липидов ГМ и приводятся данные литературы о многоступенчатости липолиза. Выделена несомненная значимость липаз молока, реализующих липолиз, особая значимость его при ферментной недостаточности желудочного и тонкокишечного липолиза у недоношенных новорожденных. Важна роль желудочного переваривания триглицеридов и для завершающего этапа в тонкой кишке. Большое внимание уделено трансформации липолиза под влиянием пастеризации донорского молока, молекулярным механизмам снижения темпа липолиза и прелиполиза при такой обработке молока. Названы изменения свойств жировой глобулы, жировой эмульсии, доступности ее для липаз, изменения свойств самих липаз, эффекта желчных кислот. Не обойдена вниманием возможность восстановления липолиза после пастеризации молока путем его последующей гомогенизации и ультрафиолетового облучения или каждого физического

воздействия в отдельности, применение повторного замораживания и оттаивания молока [S.C. de Oliveira et al., 2016; S.C. de Oliveira et al., 2017].

Абсорбция жиров из ГМ составляет 90–95 %, но зависит от длины молекулы жирных кислот. Достаточно быстро и полно абсорбируются длинноцепочечные полиненасыщенные и среднецепочечные жирные кислоты. Последние, всосавшись в энтероциты, имеют для них метаболическое энергетическое значение. Насыщенные жирные кислоты абсорбируются медленно и неполно, что может быть причиной стеатореи.

Итак, ключевая начальная роль лингвальной и гастральной липаз, формируемых в фетальный период, велика для всего периода молочного вскармливания ребенка. Это определяет актуальность количественной характеристики дигестивного потенциала липолиза новорожденного, прогнозируя таким образом, эффективность лактотрофии по важному ее компоненту – гидролизу липидов молока в их важной и многоплановой роли в организме ребенка.

### **1.6.3. Гидролиз углеводов**

Основным углеводом молока является лактоза. Лактоза, будучи дисахаридом, требует для всасывания предварительного гидролиза. Ее содержание в ГМ человека относительно стабильно и представлено в основном бета-формой. Данный углевод гидролизуется в тонкой кишке лактазой по типу мембранного пищеварения [А.М. Уголев, 1985]. Энергетическая нутритивная значимость лактозы небольшая, но она полипотентна в организме ребенка, особенно стимулируя всасывание кальция, важна для формирования его скелета, важна в транспорте воды и электролитов, будучи осмотически активной [К.Р. Рахимов, 1991; М. Namosh, 2002]. Концентрация лактозы в материнском молоке является наименее изменчивым из макроэлементов, но более высокие концентрации лактозы обнаруживаются в молоке матерей, производящих большие количества

молока [L.A. Nommsen et al., 1991]. Другими важными углеводами женского молока являются олигосахариды, которых содержится приблизительно 1 г/дл в материнском молоке в зависимости от стадии лактации и материнских генетических факторов [A.L. Morrow et al., 2005; G.M. Ruiz-Palacios et al., 2005; O. Gabrielli et al., 2011].

Лактазная активность в слизистой тонкой кишки плода человека обнаруживается на третьем месяце гестации и нарастает до периода перехода ребенка от лактотрофии к дефинитивному питанию [М.Г. Закс, В.Н. Никитин, 1975; К.Р. Рахимов, 1991]. Одновременно с этим в слизистой тонкой кишки нарастает активность другой дисахаридазы – сахаразы. Лактазная недостаточность ведет к непереносимости молока, генетически детерминирована и как один из видов энзимопатии достаточно распространена, особенно у некоторых народов, исследована и диагностируется как вид энтеропатологии [Г.Ф. Коротько, 2010]. Лактазная активность тонкой кишки может быть снижена у недоношенных новорожденных [C.L. Kien et al., 1989], в результате антибиотикотерапии, нарушения режима вскармливания, ряда хирургических вмешательств.

В ГМ содержится  $\alpha$ -амилаза, хотя в женском молоке нет полисахарида, подлежащего гидролизу посредством данной гидролазы. Принято считать, что наличие амилазы важно при смешанном вскармливании ребенка, так как продукты прикорма содержат полисахарид крахмал [M. Namosh, 2002].

Как правило, используемые при смешанном и искусственном вскармливании детей молочные смеси требуют экзогенной амилазы, так как эндогенной амилитической активности недостаточно из-за малой секреторной активности продуцентов  $\alpha$ -амилазы – слюнных и поджелудочной желез [Г.Ф. Коротько, 2014]. При этом  $\alpha$ -амилаза гидролизует полисахариды, действуя на их  $\alpha$ -1-4 гликозидные связи в желудке и тонкой кишке в широком диапазоне pH, будучи защищена от гидролиза пепсином в кислой среде белками молока [N. Silanikove, U. Merin, G. Leitner, 2006; A.R. Spevacek et al.,

2015]. В результате гидролиза крахмала образуются амилоза, мальтотриоза, солодовый сахар и декстрины. Димеры углевода в основном подвергаются заключительному гидролизу дисахаридазами тонкой кишки по принципу пристеночного пищеварения и всасываются в кровь. Некоторое количество димеров всасывается путем эндоцитоза. Данные механизмы кишечного гидролиза и всасывания у плода в конце гестации уже сформированы.

### **Резюме**

Резюмируя вышесказанное необходимо констатировать, что лактотрофия новорожденного ребенка требует в достаточной мере созревшей в антенатальный период его индивидуального развития системы пищеварения плода – моторики, секреции, абсорбции. Это в первую очередь относится к ферментовыделению пищеварительных желез новорожденного, что актуально при естественном молочном вскармливании ребенка с адаптированным к этому нутриентным составом молока. Однако, к собственному типу пищеварения при лактотрофии, особенно в первые дни и недели постнатального развития ребенка, внимание невелико и часто ограничивается утверждением о еще недостаточной развитости системы пищеварения ребенка и о неизученности данного вопроса, несмотря на его актуальность. Это в принципе справедливо. Последующее наблюдение за состоянием ребенка, констатация отсутствия признаков неестественного «поведения» системы пищеварения (поноса, отрыжки, вздутия, беспокойства, метеоризма, признаков кишечной колики) является косвенным свидетельством совершенства дигестии, что обеспечивается сочетанной энзимной достаточности секреторной деятельности пищеварительного тракта новорожденного и принимаемого им грудного материнского молока. При иной ситуации, например, при неполном сроке гестации, ферментная дигестивная система новорожденного не может обеспечить полноценный по объему гидролиз нутриентов молока и активационную индукцию гидролаз

молока, что, как правило, ведет к диспепсическим последствиям и снимается (или облегчается) корригирующими лечебными комплексными действиями неонатологов [M.J. Vinaghi et al., 2002; Е.А. Корниенко, Н.П. Шабалов, Л.В. Эрман, 2012; Адамкин, Х. Дэвид, 2013].

Накопленные экспериментальные и клинические свидетельства об этапной сущности пренатального развития системы пищеварения важны, хотя и недостаточны, для количественной характеристики стартового дигестивного потенциала новорожденного, утверждения о его биохимической и физиологической достаточности (или недостаточности) для реализации совместно с гидролазами скармливаемого молока гидролиза нутриентов молока, то есть адекватной лактотрофии. Поэтому нам представляется востребованной конкретизация концепции стартового дигестивного потенциала, его биохимической и физиологической сущности и количественное определение данного потенциала при рождении ребенка до клинических проявлений мальдигестии, мальабсорбции, диспепсии новорожденных.



## Глава 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Задачами настоящей диссертационной работы определено установление дигестивных возможностей пищеварительной системы новорожденного в предстоящей лактотрофии. Количественная характеристика данного морфофункционального параметра представляется нам одним из дополнительных критериев завершенности или незавершенности антенатального развития плода и готовности или неготовности начать и продолжить постнатальное развитие новорожденного. На основе адекватного естественного молочного вскармливания ребенка, требующего совершенной лактотрофии, непременным условием которой является полноценный процесс переваривания, всасывания и усвоения нутриентов грудного молока. Гарантией этого может быть функциональная достаточность ферментного дигестивного потенциала новорожденного, начальная готовность его пищеварительной системы обеспечить переваривание и всасывание продуктов гидролиза питательных веществ грудного молока.

Данная проблема нам представляется нетрадиционной, технически сложной, актуальной и нерешенной. Более того, она не поставлена в современной неонатологии, и априорно считается, что у новорожденного при полном сроке гестации система пищеварения готова к совершению полноценного переваривания принятого грудного молока, если последнее по составу и свойствам соответствует физиологической норме и лактация по своему объему достаточна.

Приняты и официально засвидетельствованы стандарты акушерского анамнеза и динамики основных критериев в неонатальный период развития, которые формально и, по существу, решают задачу определения морфофункциональной нормы родившегося ребенка, они определяют тактику и стратегию врача – акушера-гинеколога и врача неонатолога. Но

задачей данной диссертационной работы явилось определение и прогнозирование морфофункционального состояния только что родившегося ребенка в готовности его к полноценному молочному вскармливанию на основе совершенной дигестии нутриентов грудного молока гидролазами системы пищеварения новорожденного.

Такие объективные биохимические и физиологические критерии характеристики системы пищеварения новорожденного в родах и после них не разработаны, в отличие от некоторых других физиологических систем (сердечно-сосудистой, центральной нервной, дыхательной, выделительной). Однако ориентировочные научные предпосылки для такой разработки, по нашим представлениям, в современной физиологии и биохимии наметились. Мы имеем ввиду экзосекретируемые и эндосекретируемые пищеварительными железами ферменты. Первые содержатся в секретах пищеварительных желез, транспортируемых в полость рта и желудочно-кишечного тракта, вторые содержатся в лимфе, системной крови, моче, тканевой жидкости. Их содержание и дебиты зависят от числа и функциональной активности glanduloцитов, продуцирующих соответствующие гидролитические ферменты или их зимогены. Такой прием используется в экспериментальной и клинической гастроэнтерологии с диагностической целью. Он часто обозначается как принцип определения секреторного ферментного потенциала соответствующих пищеварительных желез, так как каждая пищеварительная железа, ее glanduloциты, синтезируют определенные известные гидролитические ферменты.

Данный принцип положен в основу примененного нами определения гидролитических возможностей ферментов пищеварительных желез новорожденного и назван нами его стартовым ферментным дигестивным потенциалом. Основными гидролазами слюнных желез являются  $\alpha$ -амилаза,  $\alpha$ -глюкозидаза, липаза (дети); желудочных желез – пепсиногены, липаза (дети); поджелудочной железы –  $\alpha$ -амилаза, трипсиногены, химотрипсиногены,

ингибитор трипсина, карбоксипептидазы, эластазы, РНК-азы, ДНК-азы, щелочная фосфатаза; тонкой кишки –  $\alpha$ -глюкозидазы, сахараза,  $\beta$ -галактозидаза (лактаза), глюкоамилаза, энтерокиназа, специфические пептидазы, карбоксипептидаза, моноглицеридлипаза, карбоксиэстераза, фосфатазы, РНК-азы, ДНК-азы [Г.Ф. Коротько, 2011; 2014].

Заметим, что щелочная фосфатаза является по своему генезу полиорганным и не только (и не столько) пищеварительным ферментом: участвует в остеосинтезе, печеночном и тонкокишечном метаболизме.

Основные из названных ферментов определялись в желудочном содержимом (желудочном аспирате) новорожденных, сыворотке крови их пуповины и из кубитальной вены, околоплодных водах (амниотической жидкости) и сыворотке крови родильницы сразу после родов.

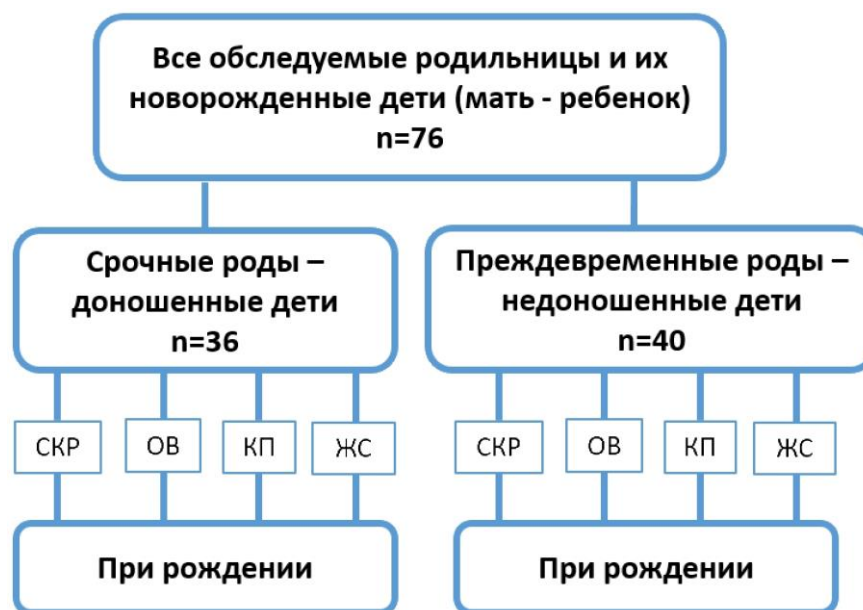
## **2.1. Контингент обследованных новорожденных и родильниц**

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, изложенными в Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации с учетом изменений, внесенных на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМА (Форталеза, Бразилия, 2013 г.), а также положений Федерального закона Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. 8 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Все включенные в исследование женщины-роженицы получили достаточную информацию о сути, целях, методах, ожидаемой пользе и потенциальных рисках, о неудобствах, которые могут возникнуть вследствие участия в исследовании, о любых иных значимых аспектах исследования, касающихся как их самих, так и их новорожденных детей. Все обследуемые женщины перед исследованием дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании, а также, являясь законными представителями своих новорожденных детей, согласие на их включение в

исследование. Все испытуемые женщины и дети наблюдались в центре перинатологии ГБУЗ «ККБ № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края.

Контингент обследованных составили 76 новорожденных детей и их родильниц. Для выполнения поставленных задач были сформированы 2 группы женщин-рожениц и 2 группы новорожденных детей. 1-я группа включала 36 женщин (26,7 лет) родивших доношенных детей, составивших первую группу новорожденных. Во 2-ю группу вошли 40 женщин (30,8 лет), родивших детей с неполным гестационным сроком, которые образовали соответствующую группу новорожденных. 47 детей родились при физиологических родах, 29 – при кесаревом сечении. Все включенные в исследование женщины не имели каких-либо хронических заболеваний в анамнезе или острых заболеваний на момент обследования. В ходе лабораторного этапа исследования было проведено комплексное изучение биохимических характеристик функциональной зрелости пищеварительной системы новорожденного и его стартового полиферментного дигестивного потенциала. В качестве материала для биохимических исследований использовали различные биологические жидкости (пуповинная и периферическая кровь, аспират желудочного содержимого новорожденных, периферическая венозная кровь женщин-родильниц, амниотическая жидкость), в которых исследовали активность гидролитических ферментов (рисунок 2.1).

Лабораторные исследования проводили на базе лаборатории кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и в лаборатории центра перинатологии ГБУЗ «ККБ № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края.. Всего было проанализировано 76 образцов пуповинной и 304 образца периферической крови новорожденных, 76 образцов периферической крови родильниц, 76 образцов амниотической жидкости и 108 образцов аспирата желудочного содержимого детей, в которых было выполнено 2864 биохимических исследований активности ряда гидролитических ферментов.



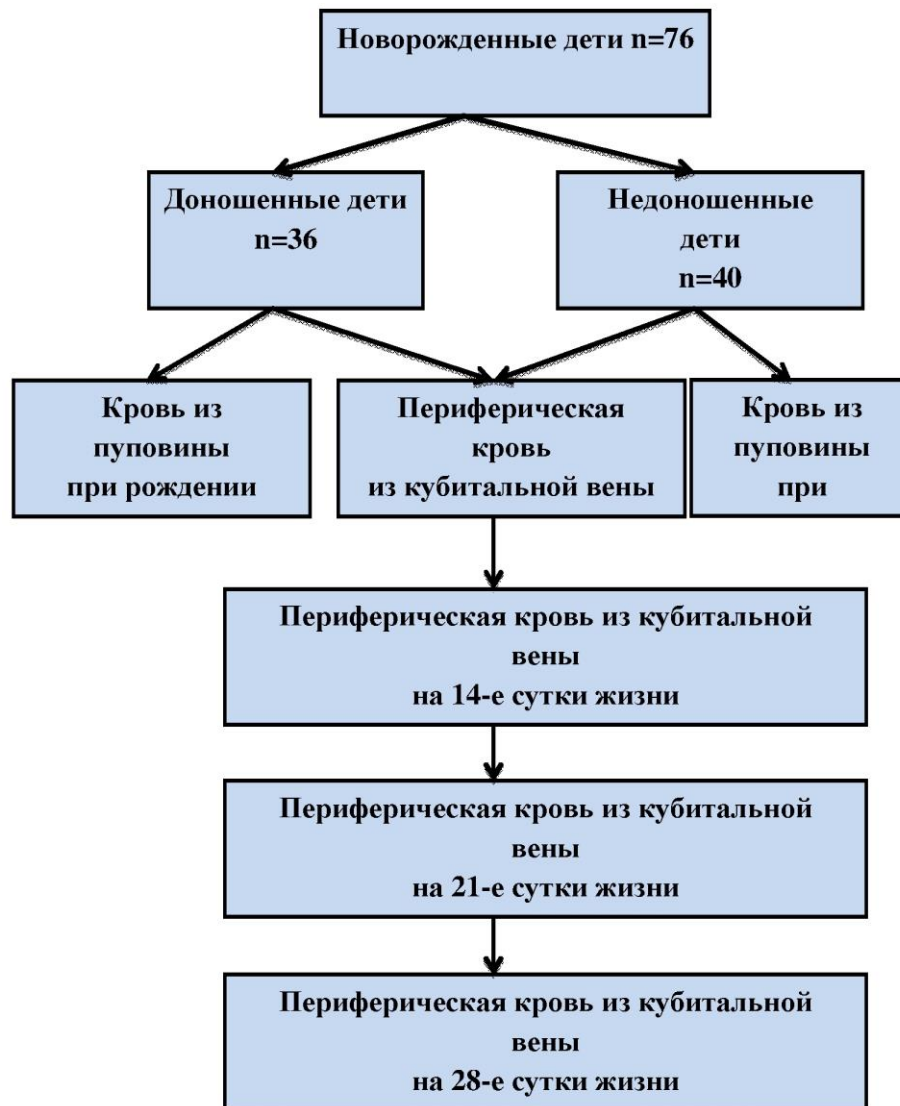
**Рисунок 2.1** – Схема исследования гидролитических ферментов пищеварительных желез ( $\alpha$ -амилаза, липаза, пепсиноген I, пепсиноген II, щелочная фосфатаза,  $\alpha$ -1-антитрипсин) в биологических жидкостях: СКР – сыворотка крови родильницы; ОВ – околоплодные воды; КП – кровь пуповины; ЖС – желудочное содержимое

Околоплодные воды у родильниц получали в стерильные шприцы, центрифугировали (10 мин, 3000 об/мин). В супернатанте определяли пепсиноген I, пепсиноген II,  $\alpha$ -амилазу, липазу, щелочную фосфатазу,  $\alpha$ -1-ингибитор трипсина.

Те же ферменты и зимогены определяли в сыворотке крови пуповины новорожденного ребенка, крови матери, в супернатанте, аспирированного у новорожденного содержимого желудка, после его предварительной гомогенизации и центрифугирования (10 мин, 3000 об/мин). Содержимое желудка новорожденного является секретом желудочных желез, проглоченных до рождения околоплодных вод и ротовой жидкости, а также регургитированного в желудок дуоденального содержимого.

У детей кровь бралась из пуповины сразу после рождения и из кубитальной вены в последующие послеродовые сутки – 7, 14, 21, 28. Кровь для исследования набиралась из пуповины после рассечения участка ее между двумя зажимами Кохера. При этом зажим Кохера на материнской

части пуповины расслаблялся, и кровь из пуповины забиралась в пробирку в объеме 3-4 мл. В полученных образцах крови новорожденных исследовали активность гидролитических ферментов пищеварительных желез ( $\alpha$ -амилаза, липаза, пепсиноген I, пепсиноген II) (рисунок 2.2).



**Рисунок 2.2** – Схема исследования содержания гидролитических ферментов пищеварительных желез ( $\alpha$ -амилаза, липаза, пепсиноген I, пепсиноген II) в крови новорожденных

У всех новорожденных сразу после родов производили забор проб желудочного аспирата, а на седьмые сутки жизни желудочное содержимое получали через зонд у 32 детей, среди которых у 18 были полные и у 14 неполные сроки гестации (рисунок 2.3). Для получения желудочного

содержимого желудочный зонд соответствующего размера вводился с соблюдением утвержденной техники на расчетную глубину и затем производилось оттягивание поршнем шприца желудочного содержимого в объеме 0,5–1 мл. Во всех образцах желудочного аспирата исследовалось содержание гидролитических ферментов:  $\alpha$ -амилазы, липазы, пепсиногена I и пепсиногена II.



**Рисунок 2.3** – Схема забора аспирата желудочного содержимого у новорожденных для определения гидролитических ферментов ( $\alpha$ -амилаза, липаза, пепсиноген I, пепсиноген II) в желудочном содержимом (ЖС)

У новорожденных были взяты антропометрические данные, акушерский анамнез в соответствии с Приказом министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 ноября 2012 г. № 921н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Неонатология». Полученная информация представлена в таблице 2.1.

**Таблица 2.1** – Антропометрические данные акушерского анамнеза исследованных доношенных (числитель) и недоношенных (знаменатель) новорожденных детей ( $n = 76$ )

Параметрические данные	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Достоверность p
Возраст матери (годы)	<u>27,67</u> 30,75	<u>28,00</u> 31,50	<u>14,00</u> 19,00	<u>41,00</u> 44,00	<u>24,50</u> 27,50	<u>30,50</u> 35,00	↓ p < 0,05
Гестационный возраст (недели)	<u>38,03</u> 32,00	<u>38,00</u> 33,00	<u>38,00</u> 27,00	<u>39,00</u> 35,00	<u>38,00</u> 30,00	<u>38,00</u> 34,00	↓ p < 0,001
Масса, (г)	<u>3546,39</u> 1765,23	<u>3595,00</u> 1715,00	<u>2640,00</u> 670,00	<u>4800,00</u> 3130,00	<u>3170,00</u> 1335,00	<u>3835,00</u> 2150,00	↓ p < 0,001
Рост, (см)	<u>53,47</u> 41,27	<u>54,00</u> 42,00	<u>46,00</u> 33,00	<u>59,00</u> 48,00	<u>52,00</u> 37,00	<u>55,50</u> 46,00	↓ p < 0,001
Окружность головы, (см)	<u>34,14</u> 28,57	<u>34,00</u> 30,00	<u>31,00</u> 17,00	<u>37,00</u> 35,00	<u>33,00</u> 26,00	<u>35,50</u> 31,00	↓ p < 0,001
Окружность груди, (см)	<u>33,30</u> 26,27	<u>33,00</u> 27,00	<u>27,00</u> 16,00	<u>37,00</u> 33,00	<u>32,00</u> 24,00	<u>35,00</u> 29,00	↓ p < 0,001
Апгар 1, (баллы)	<u>7,94</u> 5,50	<u>8,00</u> 6,00	<u>7,00</u> 1,00	<u>8,00</u> 7,00	<u>8,00</u> 5,00	<u>8,00</u> 6,00	↓ p < 0,001
Апгар 5, (баллы)	<u>8,72</u> 6,03	<u>9,00</u> 6,00	<u>8,00</u> 1,00	<u>9,00</u> 8,00	<u>8,00</u> 6,00	<u>9,00</u> 7,00	↓ p < 0,001

## 2.2. Методы определения гидролаз

Определение активности энзимов проводили с использованием модульной платформы для биохимического и иммунохимического анализа Cobas-8000 (модуль 702) фирмы Roche. Методы колориметрические. Определения пепсиногена I и пепсиногена II выполнены методом автоматизированного хемилюминесцентного иммуноанализа на автоматическом иммунохимическом анализаторе Architectplus: 2000. Исследование активности пепсиногена I и пепсиногена II проводили с использованием реагентов тест-системы «ARCHИТЕКТ Pepsinogen I» (ReagentKit – 8D07), а также тест-системы «ARCHИТЕКТ Pepsinogen II» (ReagentKit – 9D65) производства компании Abbott методом основанным на



использовании микрочастиц, сенсibilизированных антителами к пепсиногену I либо к пепсиногену II человека (СМІА), позволяющим выполнять количественное определение пепсиногена I и пепсиногена II в сыворотке и плазме крови с использованием технологии Chemiflex с гибкими протоколами анализа.

Для определения  $\alpha$ -амилазы использовался кинетический метод, основанный на гидролизе субстрата 4,6-этилиден-глюкоза7-п-нитрофенил-глюкоза1- $\alpha$ -D-мальтогептазида (ЭПС-Г7) с образованием п-нитрофенилолигомальтозидов, которые с участием  $\alpha$ -глюкозидазы расщепляются до глюкозы и п-нитрофенола. Скорость образования п-нитрофенола прямо пропорциональна активности  $\alpha$ -амилазы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм. Принцип метода: ферментативный колориметрический анализ в соответствии со стандартами Международной федерации клинической химии (IFCC).

Липаза определялась с использованием набора реагентов для *invitro* диагностики, предназначенного для количественного определения липазы в сыворотке и плазме крови человека на анализаторе Roche/Hitachicobasc-311 кинетическим колориметрическим методом. Метод базируется на гидролизе специфического хромогенного субстрата липазы 1,2-О-дилаурил-рэк-глицеро-3-глутаровая кислота-(6-метил-ресорифин) эстер, эмульгированного желчными кислотами. Серия реакций, используемая в данном методе, является прямым энзиматическим определением липазы. Уровень образования метилресорифина, измеряется фотометрически, и пропорционален активности липазы в образце.

Активность  $\alpha$ -1-антитрипсина определяли при помощи набора для *invitro* диагностики, предназначенного для количественного определения этого ингибитора протеаз в сыворотке и плазме крови человека на анализаторе Roche/Hitachicobasc-311. Принцип метода: иммунонефелометрический анализ. Человеческий  $\alpha$ -1-антитрипсин формирует осадок со специфической антисывороткой, который определяется турбидиметрическим методом.

Активность щелочной фосфатазы исследовали кинетическим колориметрическим методом на анализаторе Roche/Hitachicobas c-311. Принцип метода: щелочная фосфатаза в анализируемом образце определяется путем измерения скорости гидролиза эфира фосфорной кислоты – п-нитрофенилфосфата. Скорость гидролиза субстрата прямо пропорциональна активности щелочной фосфатазы в пробе и измеряется спектрофотометрически при длине волны 405 нм.

От момента взятия крови, околоплодных вод и содержимого желудка до получения информации о содержании в них названных ферментов проходило не более 1,5 часов.

### **2.3. Статистическая обработка данных**

Результаты лабораторных исследований активности ферментов имели большой разброс значений, их распределения не соответствовали нормальному закону, поэтому для описания содержания ферментов использовали медиану (Me), минимальное, максимальное значение, нижнюю и верхнюю квартили (p0,25 и p0,75). Для анализа различий в двух независимых группах данных применили непараметрические критерии Вальда-Вольфовица, Колмогорова-Смирнова. Оценку значимости отличий между независимыми группами проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Произведен также корреляционный анализ ферментных показателей. Статистический анализ данных реализован в среде пакета Statistica 6 (А.А. Халафян, 2010).

### Глава 3

## ГИДРОЛАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ В ХАРАКТЕРИСТИКЕ СТАРТОВОГО ДИГЕСТИВНОГО ФЕРМЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ИХ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ

### 3.1. Гидролазы сыворотки крови

В гастроэнтерологии определение гидролаз в сыворотке или плазме крови используется как тест, количественно характеризующий активность glanduloцитов соответствующих пищеварительных желез макроорганизма. Это обозначено нами ранее как «ферментный потенциал». Именно в этом плане трактуется содержание в крови пациентов пепсиногенов I и II,  $\alpha$ -амилазы, липазы в отношении желез желудка и поджелудочной железы в условиях нормального транспорта гидролаз в составе секрета из протоков желез [S. Rothman, C. Liebow, L. Isenman, 2002]. Соответственно, при гипотрофии желез желудка, его резекции и гастрэктомии содержание пепсиногенов в крови пациентов снижается пропорционально уменьшению количества главных клеток желез слизистой оболочки желудка и проксимальной части двенадцатиперстной кишки [Р.В. Крестич, 2010]. Гипертрофия желез желудка, наоборот, повышает показатели пепсиногенов. Соответствующие трансформации поджелудочной железы приводят к гипер- или гипоамилаземиям, реже и менее выраженным гипо- или гиперлипаземиям [Е.А. Шубникова, Г.Ф. Коротько, 1986]. Есть и другие причины гипо- и гиперферментемий, о которых будет сказано при обсуждении полученных результатов.

Лингвальная разновидность липазы вырабатывается в ротовой полости серозными железами Эбнерау новорожденных детей для первичного расщепления пищи, то есть для расщепления жиров материнского молока. Железы, продуцирующие лингвальную липазу, расположены в слизистой оболочке корня языка и примыкающей к нему области глотки грудного ребёнка. Их стимуляция происходит при раздражении механорецепторов во

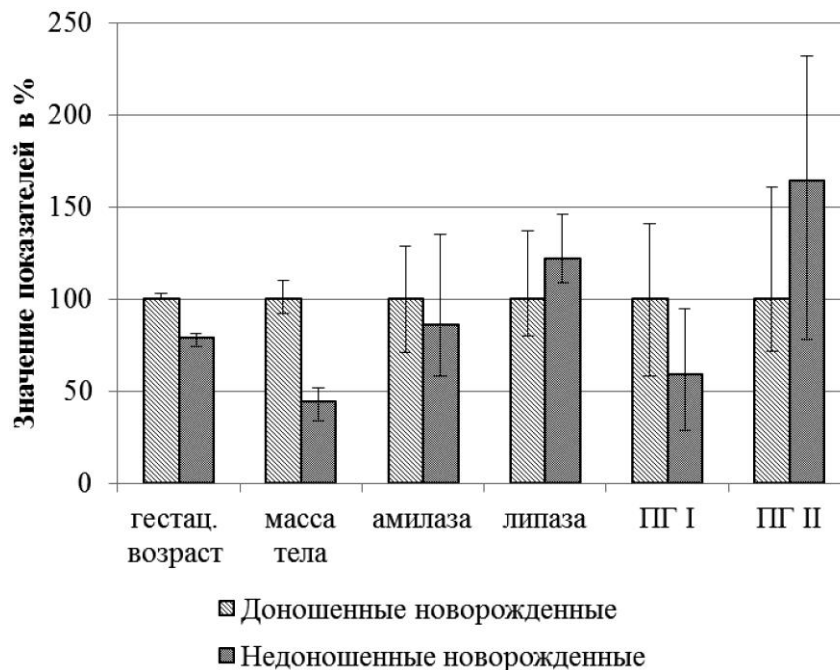
время сосательных и глотательных движений при естественном кормлении грудью. Молоко проглатывается быстро и лингвальная липаза, перемешанная с молоком, начинает действовать только в желудке. Оптимальной кислотностью для лингвальной липазы является 4–5 рН, равная кислотности желудочного сока грудных детей. Уровень лингвальной липазы в крови детей гораздо выше, чем уровень других видов липазы.

Задачами настоящей главы явилось изучение содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины новорожденных как показателей степени развития их пищеварительных желез в антенатальный период индивидуального онтогенеза, то есть сформированности в этот период ферментного потенциала, а также его трансформации в первый месяц постнатального развития ребенка. Параметры пуповинной крови рассматривались как показатели сыворотки крови новорожденного, и они сравнивались с показателями сыворотки венозной крови детей на 7, 14, 21 и 28 дни после рождения. Все дети, включенные в исследование, находились на грудном вскармливании. В числе 76 обследованных детей были две группы: с полным сроком гестации (37–42 недели) – 36 детей, и с неполным сроком гестации (25–32 недели) – 40 новорожденных. У группы детей с неполным сроком гестации ферментные показатели были очень вариабельны, поэтому дети данной группы были разделены на две подгруппы: умеренно недоношенные (от 36 до 30 недели гестации) и «очень» недоношенные (от 29 до 24 недели гестации). Количественная характеристика каждого функционального или морфологического параметра предполагает его низкую вариабельность, относительную стабильность, по крайней мере, в пределах референсного интервала. В организме человека выделяются параметры, не стабилизируемые и, в разной мере, стабилизируемые. Последние составляют то, что в общем виде относят к тому или иному виду гомеостаза. Учение о нем определяет один из разделов биологии, в том числе и ферментный гомеостаз. Специально посвященных ему исследований у новорожденных мы в доступной литературе не встретили.

### 3.2. Гидролазы сыворотки крови пуповины новорожденных с полным и неполным гестационным сроком

Полученные результаты показали, что сыворотка крови пуповины новорожденных детей содержит  $\alpha$ -амилазу, липазу и пепсиноген I и пепсиноген II. Показатели активности названных энзимов ниже, чем тестовые средние величины ферментативной активности крови у взрослых здоровых людей, у которых по данным гастроэнтерологической литературы за норму содержания пепсиногена I принят интервал 3,0–16,5 мкг/л, пепсиногена II – 3,0–15,0 мкг/л. Видимо, у новорожденных пепсиногены крови не только фетальные, но и плацентарные, а также и материнские. Содержание  $\alpha$ -амилазы и липазы в сыворотке пуповинной крови как правило ниже, чем в сыворотке крови взрослого человека, которое по принятым за норму средним величинам, составляет соответственно 50–60 ед/л и 25–30 ед/л.

Сыворотка крови пуповины недоношенных детей могла содержать гидролазы в меньшей и большей концентрации, чем сыворотка крови пуповины доношенных (рисунок 3.1).



**Рисунок 3.1** – Гидролазы сыворотки крови пуповины доношенных и недоношенных новорожденных: ПГ – пепсиногены I и II

Это находит объяснение в чрезвычайно высокой вариабельности содержания гидролаз, особенно антродуоденального пепсиногена II, в сыворотке пуповинной крови недоношенных детей (таблица 3.1).

**Таблица 3.1** – Гидролазы сыворотки крови пуповины доношенных ( $n = 36$ ) (числитель) и недоношенных ( $n = 40$ ) (знаменатель) новорожденных

Переменные	Среднее	Медиана	Min	Max	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Статист. откл.	Коэф. вар.
Гестац. возраст (недели)	<u>39,37</u> 30,19	<u>39,00</u> 31,00	<u>37,00</u> 25,00	<u>42,00</u> 34,00	<u>39,00</u> 29,00	<u>40,00</u> 32,00	<u>1,019</u> 2,379	<u>2,59</u> 7,88
Масса тела (г)	<u>3527,65</u> 1551,43	<u>3530,00</u> 1550,00	<u>400,00</u> 700,00	<u>4855,00</u> 2750,00	<u>3250,00</u> 1200,00	<u>3880,00</u> 1850,00	<u>634,75</u> 538,34	<u>18,00</u> 34,70
Амилаза (ед/л)	<u>7,20</u> 8,29	<u>7,00</u> 6,00	<u>3,00</u> 1,00	<u>14,00</u> 33,00	<u>5,00</u> 4,00	<u>9,00</u> 10,00	<u>2,716</u> 7,83	<u>37,69</u> 94,50
Липаза (ед/л)	<u>10,04</u> 13,16	<u>8,30</u> 10,10	<u>4,70</u> 5,30	<u>30,50</u> 55,20	<u>6,60</u> 9,00	<u>11,40</u> 12,10	<u>5,053</u> 11,13	<u>50,31</u> 84,62
ПГ I* (нг/мл)	<u>8,09</u> 5,50	<u>7,30</u> 4,30	<u>1,60</u> 1,50	<u>20,90</u> 19,70	<u>4,20</u> 2,10	<u>10,30</u> 7,40	<u>4,79</u> 4,36	<u>59,25</u> 79,32
ПГ II* (нг/мл)	<u>5,37</u> 9,47	<u>3,90</u> 6,40	<u>1,00</u> 0,70	<u>28,30</u> 290,90	<u>2,80</u> 2,40	<u>6,30</u> 13,80	<u>4,56</u> 67,80	<u>84,97</u> 230,10

Примечание: ПГ – пепсиногены I и II, коэф. вар. – коэффициент вариации

Как видно из представленных в таблице 3.1 данных, у новорожденных с полным сроком гестации показатели содержания гидролаз в сыворотке пуповинной крови имели коэффициент вариации (отношение стандартного отклонения к среднему, то есть разбросы переменных, мера их варьирования) по амилазе – 37,7; а у недоношенных новорожденных – 94,5; по липазе соответственно 50,3 и 84,6; по пепсиногену I – 59,2 и 79,3; по пепсиногену II – 85,0 и 230. Полученные данные позволили констатировать, что вариабельность содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины была существенно выше у недоношенных новорожденных.

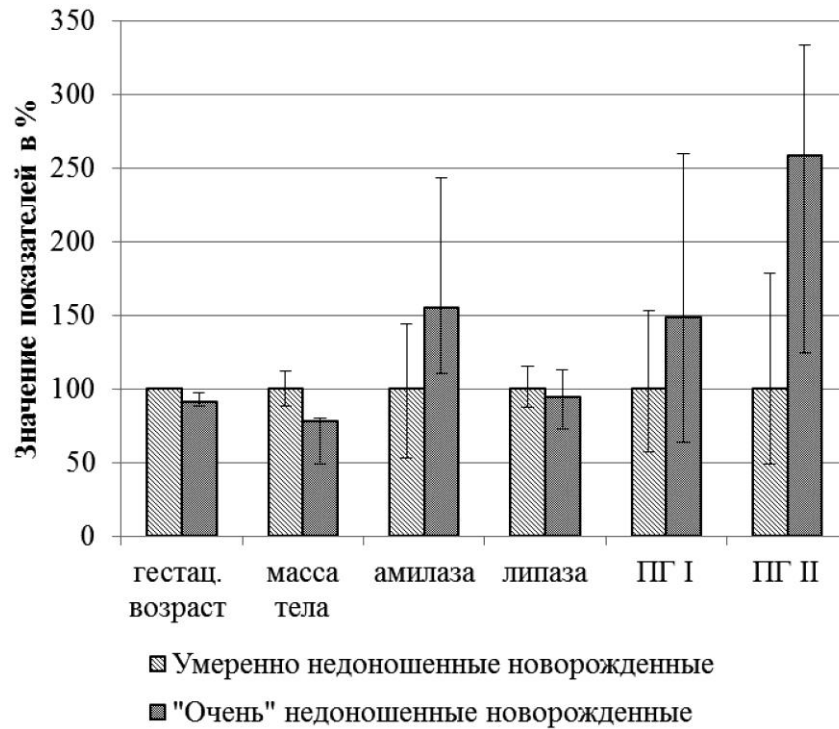
Значения коэффициентов вариации были существенно различающимися в подгруппах с умеренной и более выраженной недоношенностью при менее различающихся показателях ферментемии в этих подгруппах (таблица 3.2). В первой подгруппе варьирование содержания амилазы составило 143,7; во второй – 67,6; по липазе – 101,8 и 60,5; по пепсиногену I – 59,5 и 78,1; и по пепсиногену II – 200,4 и 244,8.

**Таблица 3.2** – Гидролазы сыворотки крови пуповины умеренно недоношенных (числитель) и «очень» недоношенных (знаменатель) новорожденных детей

Переменная	Среднее	Медиана	Min	Max	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Статист. откл.	Коэф. вар.
Гестац. возраст (недели)	<u>32,25</u>	<u>32,00</u>	<u>32,00</u>	<u>34,00</u>	<u>32,00</u>	<u>32,00</u>	<u>0,707</u>	<u>2,19</u>
	28,92	29,00	25,00	31,00	28,00	31,00	2,139	7,40
Масса тела (г)	<u>1965,00</u>	<u>1935,00</u>	<u>1380,00</u>	<u>2750,00</u>	<u>1700,00</u>	<u>2160,00</u>	<u>416,001</u>	<u>21,17</u>
	1296,92	1500,00	700,00	1990,00	950,00	1550,00	444,829	34,30
Амилаза (ед/л)	<u>7,37</u>	<u>4,50</u>	<u>1,00</u>	<u>33,00</u>	<u>1,50</u>	<u>6,50</u>	<u>10,596</u>	<u>143,67</u>
	8,85	7,00	2,00	22,00	5,00	11,00	5,984	67,64
Липаза (ед/л)	<u>15,77</u>	<u>10,70</u>	<u>6,20</u>	<u>55,20</u>	<u>9,35</u>	<u>12,35</u>	<u>16,058</u>	<u>101,80</u>
	11,55	10,10	5,30	32,20	7,90	12,10	6,987	60,51
ПГ I (нг/мл)	<u>3,87</u>	<u>3,45</u>	<u>1,50</u>	<u>7,40</u>	<u>1,95</u>	<u>5,65</u>	<u>2,308</u>	<u>59,55</u>
	6,49	5,10	1,80	19,70	2,20	9,00	5,072	78,13
ПГ II (нг/мл)	<u>25,35</u>	<u>4,15</u>	<u>1,10</u>	<u>147,90</u>	<u>2,05</u>	<u>20,70</u>	<u>50,805</u>	<u>200,42</u>
	32,00	10,70	0,70	290,90	5,00	13,80	78,346	244,83

Результаты исследования сыворотки крови пуповины умеренно недоношенных и «очень» недоношенных новорожденных детей позволили констатировать неочевидность влияния степени недоношенности на анализируемые показатели энзиматической активности пуповинной крови (рисунок 3.2).

По результатам анализа ферментативной активности сыворотки крови пуповины новорожденных можно заключить, что она свидетельствует о неполной антенатальной сформированности ферментсинтезирующего



**Рисунок 3.2** – Гидролазы сыворотки крови пуповины умеренно недоношенных и «очень» недоношенных новорожденных детей: ПП – пепсиногены I и II

секреторного аппарата детей с полным и неполным гестационным возрастом, так как эти показатели существенно ниже, чем у здорового взрослого человека. Однако у новорожденных еще не сформирован регуляторный аппарат обеспечения ферментного гомеостаза организма, который включает в себя не только транспорт ферментов пищеварительных желез в системный кровоток, но и ренальные и экстраренальные механизмы выведения гидролаз из кровотока, а также деградацию сериновыми протеиназами и адсорбцию гидролаз и их предшественников эндотелием кровеносных сосудов.

По этой причине ферментные показатели сыворотки пуповинной крови чрезвычайно вариабельны и потому не могут быть индивидуально достаточно информативны в оценке уровня фетальной сформированности пищеварительных желез – продуцентов соответствующих гидролитических ферментов.

Полученные статистически варьирующие в широких пределах цифровые показатели содержания гидролаз требуют дальнейшего анализа у



бóльшего числа детей. Причины данного свидетельства несформированности механизмов ферментного гомеостаза должны стать предметом специального биомедицинского исследования, особенно в связи с доказанной полипотентной морфофункциональностью гидролаз и их пептидных фрагментов [Г.Ф. Коротько, 2003]. И, наконец, только на основании результатов определения гидролаз в сыворотке крови пуповины новорожденных нельзя уверенно количественно индивидуально охарактеризовать ферментный потенциал доношенного и недоношенного ребенка.

### **3.3. Гидролазы сыворотки крови доношенных и недоношенных детей в течение первого месяца постнатального периода индивидуального онтогенеза**

В таблице 3.3 приведены результаты статистической обработки данных показателей ферментативной активности сыворотки крови у доношенных и недоношенных детей первого месяца постнатального развития.

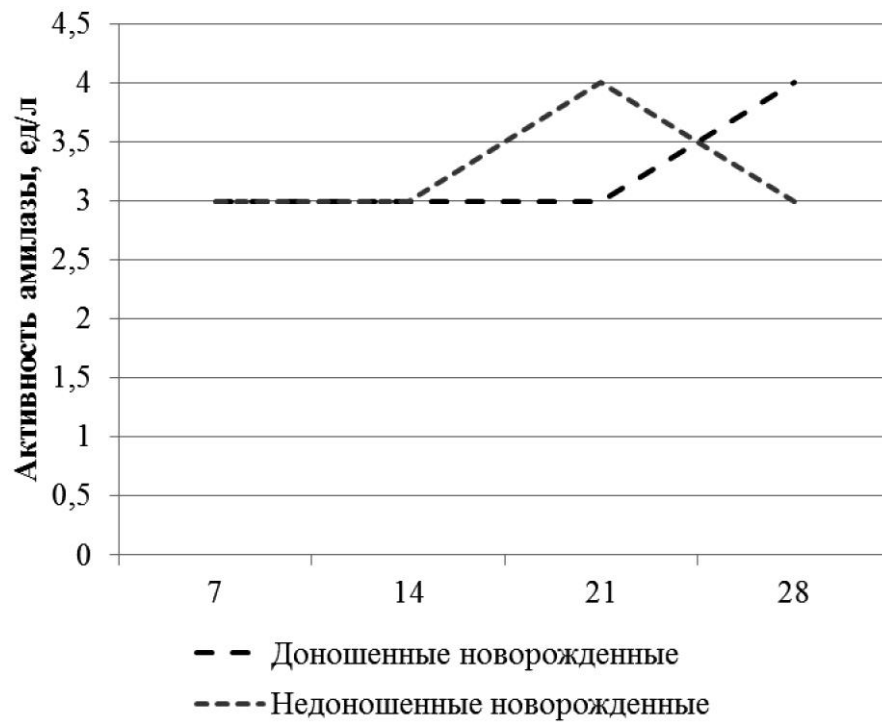
Изменение активности амилазы сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 7–28) графически представлено на рисунок 3.3.

Увеличение активности сывороточной амилазы в последней неделе первого месяца постнатального периода, возможно, свидетельствует о росте амилолитического потенциала поджелудочной железы новорожденного.

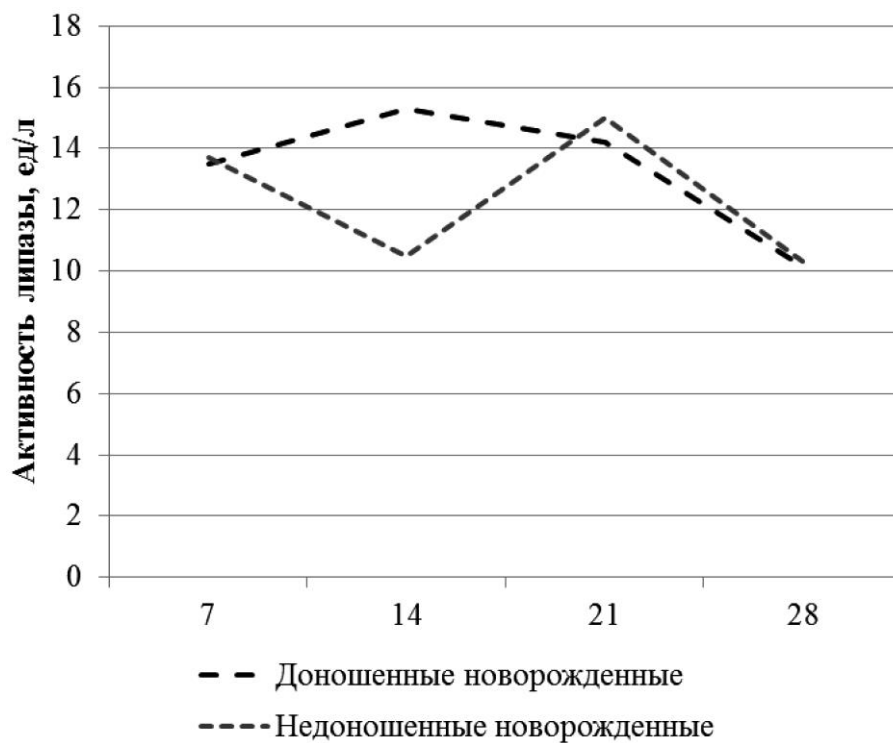
Менее понятна динамика изменения активности липазы сыворотки крови новорожденных за период с 7 по 28 день постнатального периода (рисунок 3.4). Высокий уровень липолитической активности периферической крови доношенных новорожденных детей в течение первых трех недель постнатальной жизни вероятно отражает выраженную секреторную

**Таблица 3.3** – Гидролазы сыворотки крови доношенных (числитель) и недоношенных (знаменатель) новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 1–28)

Гидролазы и сутки жизни		Среднее	Медиана	Минимум	Максим.	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Статист. откл.	Коэф. вар.
Амилаза (ед/л)	7	<u>2,87</u> 4,75	<u>3,00</u> 3,00	<u>1,00</u> 1,00	<u>6,00</u> 16,00	<u>2,00</u> 3,00	<u>3,00</u> 5,50	<u>1,574</u> 3,888	<u>55,07</u> 81,84
	14	<u>3,62</u> 8,571	<u>3,00</u> 3,00	<u>2,00</u> 1,00	<u>10,00</u> 26,00	<u>2,50</u> 1,00	<u>3,00</u> 20,00	<u>2,615</u> 10,147	<u>72,14</u> 118,38
	21	<u>3,14</u> 4,30	<u>3,00</u> 4,00	<u>1,00</u> 2,00	<u>6,00</u> 7,00	<u>2,00</u> 3,00	<u>4,00</u> 5,00	<u>1,574</u> 1,494	<u>50,07</u> 34,75
	28	<u>3,67</u> 3,00	<u>4,00</u> 3,00	<u>3,00</u> 1,00	<u>4,00</u> 5,00	<u>3,00</u> 2,00	<u>4,00</u> 5,00	<u>0,577</u> 1,528	<u>15,746</u> 50,918
Липаза (ед/л)	7	<u>12,771</u> 14,233	<u>13,50</u> 13,70	<u>6,60</u> 8,40	<u>16,70</u> 26,40	<u>9,90</u> 11,30	<u>16,00</u> 15,50	<u>3,610</u> 4,958	<u>28,27</u> 34,83
	14	<u>24,37</u> 14,80	<u>15,30</u> 10,50	<u>8,30</u> 7,50	<u>67,70</u> 23,80	<u>13,75</u> 9,40	<u>30,45</u> 23,20	<u>19,592</u> 7,011	<u>80,38</u> 47,37
	21	<u>24,89</u> 15,40	<u>14,20</u> 15,00	<u>8,50</u> 5,30	<u>74,90</u> 28,70	<u>13,00</u> 9,80	<u>27,50</u> 17,70	<u>22,968</u> 7,567	<u>92,30</u> 49,17
	28	<u>10,15</u> 19,43	<u>10,15</u> 10,30	<u>10,10</u> 8,20	<u>10,20</u> 62,40	<u>10,10</u> 9,70	<u>10,20</u> 22,00	<u>0,071</u> 19,619	<u>0,698</u> 102,48
Пепсиноген I (нг/мл)	7	<u>5,97</u> 11,85	<u>4,00</u> 5,95	<u>1,50</u> 1,60	<u>13,90</u> 66,80	<u>2,60</u> 2,70	<u>11,30</u> 11,85	<u>4,735</u> 17,884	<u>79,10</u> 150,92
	14	<u>4,62</u> 7,50	<u>3,40</u> 4,90	<u>1,60</u> 1,70	<u>8,80</u> 19,80	<u>2,35</u> 2,70	<u>7,55</u> 12,20	<u>2,898</u> 6,462	<u>62,66</u> 86,16
	21	<u>6,01</u> 7,54	<u>4,50</u> 4,45	<u>1,30</u> 3,20	<u>12,30</u> 20,70	<u>3,20</u> 3,90	<u>9,20</u> 10,60	<u>3,801</u> 5,849	<u>63,20</u> 77,58
	28	<u>6,13</u> 11,57	<u>6,10</u> 5,50	<u>2,00</u> 3,90	<u>10,30</u> 32,90	<u>2,00</u> 4,60	<u>10,30</u> 21,80	<u>4,150</u> 11,305	<u>67,66</u> 97,67
Пепсиноген II (нг/мл)	7	<u>12,81</u> 11,82	<u>7,90</u> 7,05	<u>3,30</u> 2,80	<u>42,60</u> 44,90	<u>6,10</u> 4,75	<u>13,00</u> 15,55	<u>13,474</u> 11,796	<u>105,15</u> 99,83
	14	<u>8,01</u> 19,84	<u>8,00</u> 6,30	<u>2,60</u> 2,60	<u>12,50</u> 108,30	<u>6,70</u> 3,40	<u>9,80</u> 6,60	<u>2,975</u> 39,037	<u>37,13</u> 196,73
	21	<u>7,78</u> 7,31	<u>6,20</u> 5,35	<u>3,20</u> 2,90	<u>13,50</u> 12,70	<u>4,40</u> 4,20	<u>11,00</u> 11,80	<u>3,846</u> 3,942	<u>49,40</u> 53,92
	28	<u>9,36</u> 6,43	<u>9,00</u> 5,90	<u>7,70</u> 2,50	<u>11,40</u> 9,80	<u>7,70</u> 5,20	<u>11,40</u> 8,20	<u>1,877</u> 2,407	<u>20,04</u> 37,44



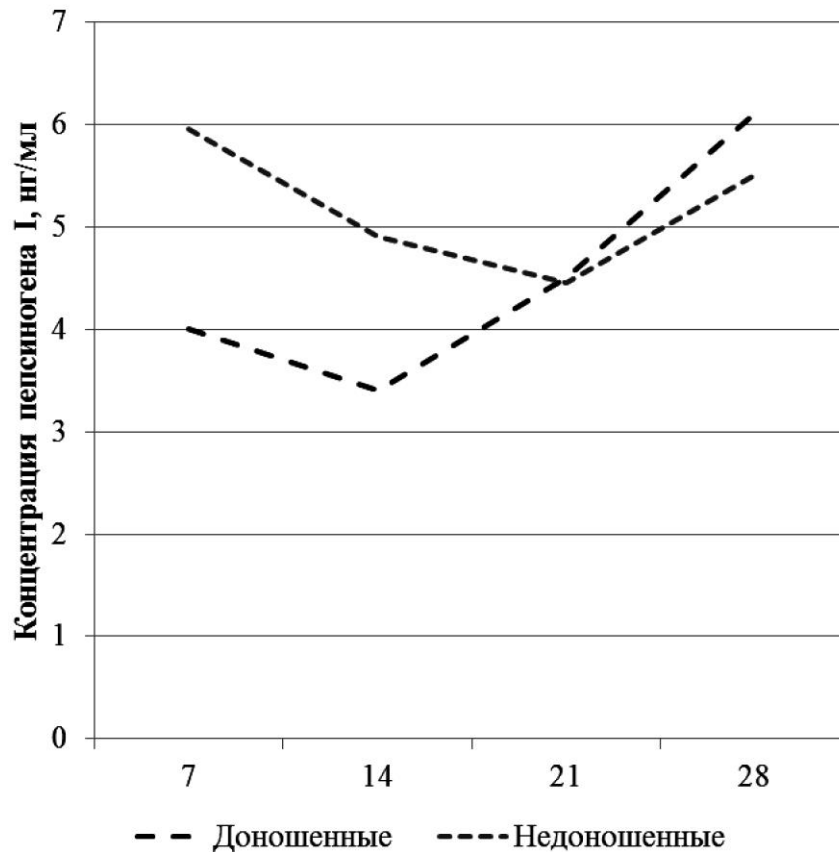
**Рисунок 3.3** – Активность амилазы сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 7–28)



**Рисунок 3.4** – Активность липазы сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 7–28)

активность желез ротовой полости (лингвальных и слюнных), продуцирующих существенное количество липаз, которые с момента начала лактотрофии обеспечивают переваривание основного питательного компонента материнского молока – жиров. У недоношенных новорожденных формирование такой физиологической адаптивной реакции в этот же период, по-видимому, происходит недостаточно полноценно, что и обуславливает иную динамику данного ферментного показателя крови. В течение второй недели постнатальной жизни у недоношенных детей зафиксирован не рост липолитической активности периферической крови, а существенное ее уменьшение. Причины этого эффекта не ясны и, скорее всего, определяются особенностями функционирования организма недоношенных новорожденных. Очень интересен факт того, что на 21 день постнатального развития содержание липазы в крови недоношенных детей не только достигло уровня этого показателя доношенных новорожденных, но и несколько превысило его. Изменение липолитической активности сыворотки крови новорожденных за последнюю неделю первого постнатального месяца жизни как у доношенных, так и у недоношенных детей практически однонаправлено и демонстрирует очевидное ее уменьшение к 28 дню наблюдения (рисунок 3.4).

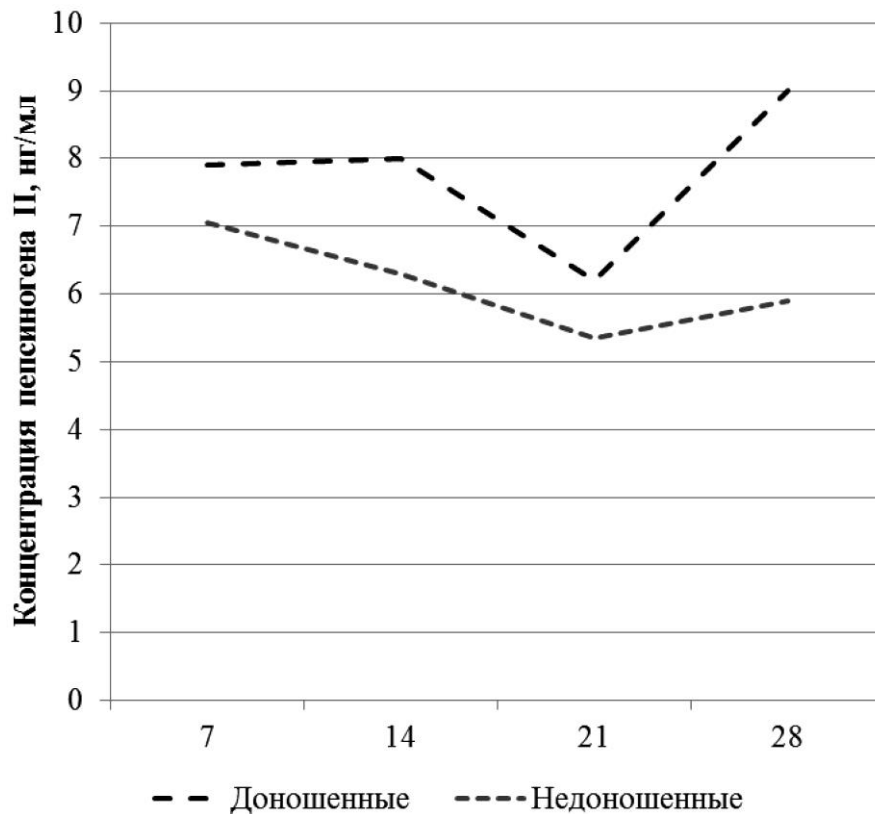
Анализ динамики концентрации пепсиногена I сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в течение первого месяца постнатального периода онтогенеза позволил выявить очевидное сходство изменений этого ферментного показателя при столь же явной неодинаковости их выраженности. Снижение содержания пепсиногена I как в крови доношенных, так и недоношенных детей с 7 по 14 день затем продолжилось у детей с неполным сроком гестации, но у детей с полным сроком гестации отмечено существенное увеличение сывороточной активности этого энзима в течение последующих недель наблюдения. У недоношенных новорожденных такая тенденция отмечена только на последней неделе первого постнатального месяца жизни (рисунок 3.5).



**Рисунок 3.5** – Концентрация пепсиногена I сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 7–28)

Изменение концентрации пепсиногена II сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза, зафиксированное в данном исследовании, свидетельствует о сходстве изменений у детей обеих обследованных групп. Незначительные различия между доношенными и недоношенными детьми в ракурсе содержания сывороточного пепсиногена II состоят только в количественных показателях их характеризующих. У недоношенных новорожденных они несколько меньше, чем у детей с полным сроком гестации (рисунок 3.6).

В таблице 3.4 приведены средние величины и вариабельность содержания каждого из четырех ферментов в сыворотке крови этих детей в течение первого месяца их жизни.



**Рисунок 3.6** – Концентрация пепсиногена II сыворотки крови доношенных и недоношенных новорожденных детей в динамике первого месяца постнатального периода онтогенеза (по суткам: 7–28)

**Таблица 3.4** – Динамика показателей гидролаз сыворотки крови (правая цифра) и их коэффициента вариации (левая цифра) у доношенных (числитель) и недоношенных (знаменатель) детей в первый постнатальный месяц

Гидролазы	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки
Амилаза (ед/л)	<u>37,7/7,20</u> 94,5/8,28	<u>50,4/5,05</u> 81,6/4,05	<u>37,6/4,57</u> 123,9/5,93	_____	<u>25,1/11,91</u> 41,1/3,20
Липаза (ед/л)	<u>50,3/10,04</u> 84,6/13,15	<u>78,4/20,68</u> 32,6/13,69	<u>25,8/17,11</u> 77,4/19,90	_____	<u>67,9/9,80</u> 101,8/17,14
Пепсиноген I (нг/мл)	<u>59,2/8,09</u> 79,3/5,49	<u>52,5/8,82</u> 150,0/6,51	<u>38,8/10,30</u> 82,6/5,96	_____	<u>35,8/12,27</u> 98,5/9,94
Пепсиноген II (нг/мл)	<u>85,0/5,36</u> 230,1/9,47	<u>42,9/13,56</u> 99,1/8,47	<u>22,4/8,61</u> 194,8/6,76	_____	<u>36,4/9,13</u> 35,3/7,31

Анализ представленного цифрового материала свидетельствует о широкой вариабельности всех ферментных показателей на протяжении первого постнатального месяца жизни детей. Это, как отмечено выше, указывает на

несформированность у них механизмов гомеостатирования содержания в крови гидролаз не только в антенатальный, но и ранний постнатальный (неонатальный) период. Это подтверждается индивидуальной вариабельностью ферментных показателей в течение неонатального периода у доношенных и недоношенных детей, а также статистически обработанными данными.

В таблице 3.4 специально выделены средние величины содержания гидролаз в сыворотке крови доношенных (числитель) и недоношенных (знаменатель) детей неонатального месяца и коэффициент вариации этих показателей. Судя по этим данным, у доношенных вариабельность содержание амилазы, пепсиногена I и пепсиногена II с возрастом уменьшается при четко прослеживаемой тенденции к повышению среднего содержания ферментов. Это свидетельствует о возрастной положительной динамике ферментного потенциала, то есть числа glanduloцитов пищеварительных желез, синтезирующих соответствующие гидролитические ферменты. Таким образом, можно утверждать о возрастном совершенствовании механизмов ферментного гомеостатирования с одновременным увеличением ферментного потенциала доношенных детей. У недоношенных детей этого нет по содержанию в сыворотке крови амилазы и пепсиногена II и слабо выражено по пепсиногену I.

У недоношенных детей эти процессы морфофункциональной ферментной стабилизации и нарастания содержания гидролаз не происходят или развиты в меньшей мере.

Теоретическая новизна полученных результатов исследования и практическая их значимость для лактотрофии потребовала проведения анализа зависимости дигестивного неонатального потенциала в конце первого месяца жизни от величины данного потенциала, сформированного в антенатальный период, то есть его величины при рождении. Этим мы сочли возможным характеризовать коэффициентом корреляции ферментных показателей первого дня жизни, определенных у детей при их рождении и на 28 сутки их жизни. Результаты такого корреляционного анализа представлены в таблице 3.5.

**Таблица 3.5** – Зависимость (r) содержания гидролаз в сыворотке крови доношенных (числитель) и недоношенных (знаменатель) новорожденных в конце постнатального месяца от таковых показателей последнего дня антенатального периода (при рождении)

Амилаза	Липаза	Пепсиноген I	Пепсиноген II
<u>0,60</u>	<u>0,70</u>	<u>0,88</u>	<u>0,23</u>
-0,02	-0,11	0,56	-0,42

Представленные результаты корреляционного анализа позволяют заключить, что содержание в сыворотке венозной крови месячного ребенка, то есть его дигестивный для лактотрофии потенциал, при доношенной гестации состоит в прямой зависимости от такового потенциала при рождении по амилазе, липазе и пепсиногену I, а по пепсиногену II, синтезируемому glanduloцитами слизистой оболочки антродуоденальной зоны, такой зависимости нет. У недоношенных детей такой зависимости нет по трем гидролазам: амилазе, липазе и пепсиногену II. Такие результаты указывают на диагностическую значимость определения гидролаз сыворотки крови пуповины новорожденного в прогнозировании дигестивного потенциала в последующий месяц жизни ребенка, что актуально в прогнозировании оптимальной или неоптимальной естественной лактотрофии.

Вместе с тем следует признать, что антенатально сформированный дигестивный потенциал весьма вариабелен, различаясь у разных детей с нормальным сроком гестации в период первого постнатального месяца жизни. Такие результаты объясняются существенной ролью в обеспечении определенного уровня содержания гидролаз в крови пуповины не только пищеварительных желез плода, но и плаценты, ферментов материнской крови, а также несформированностью регуляторных механизмов обеспечения относительного постоянства (гомеостаза) содержания гидролаз в системном кровотоке. Это является причиной недостаточно высокой информативности содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины новорожденного о его стартовом дигестивном потенциале. Практическая значимость знания его



возможностей как одного из параметров и критериев благополучного постнатального развития и успешности лактотрофии определяет необходимость дальнейших поисков методов количественной характеристики дигестивного потенциала новорожденного, прогнозирования функциональной активности его системы пищеварения в лактотрофии и смешанного вскармливания ребенка, возможных приемов трофологической поддержки.

Резюмируя результаты исследований, представленных в данной главе можно заключить, что в сыворотке крови пуповины новорожденных с полным и неполным гестационными периодами присутствуют гидролазы и зимогены пищеварительных желез: липаза,  $\alpha$ -амилаза, пепсиногены I и II, содержание которых очень вариабельно, особенно у недоношенных детей. Причинами такой вариабельности являются: асинхронность антенатального формирования различных ферментных систем, мультиорганный генез гидролаз в крови плода и новорожденных детей, несформированность регуляторных механизмов обеспечения ферментного гомеостаза. Содержание гидролаз в сыворотке крови в конце неонатального периода новорожденных детей с нормальными сроками гестации состоит в прямой зависимости от содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины, сформированного при полном сроке гестации. У недоношенных детей такой зависимости нет, то есть у них значительно задержано формирование стартового дигестивного потенциала.

## Глава 4

### **ГИДРОЛАЗЫ АСПИРАТА ЖЕЛУДОЧНОГО СОДЕРЖИМОГО НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В ХАРАКТЕРИСТИКЕ СТАРТОВОГО ДИГЕСТИВНОГО ФЕРМЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ИХ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ**

Анализ результатов исследований, связанных с определением стартового дигестивного потенциала новорожденных детей по показателям количественной характеристики гидролитических ферментов сыворотки крови пуповины при рождении, представленный в третьей главе, предопределил необходимость поиска других критериев. Таким критерием представилось определение гидролитических ферментов аспирата натошачевого желудочного содержимого новорожденных.

Ферментативная активность желудочного содержимого обеспечивается гидролазами желудочного секрета; регургитированного дуоденального содержимого, содержащего гидролазы поджелудочного и кишечного секретов; проглоченного орального содержимого (ротовой жидкости), имеющего гидролазы секретов слюнных и лингвальных желез, десневой жидкости, и проглоченных околоплодных вод. То есть желудочный аспират новорожденного ребенка является полисекреторным продуктом и характеризует секрецию гидролитических ферментов главными пищеварительными железами новорожденного ребенка.

Вариабельность полиферментного желудочного содержимого может быть относительно пониженной из-за отсутствия у новорожденных натошачевой периодической секреторной и моторной деятельности желудочно-кишечного тракта, но дуодено-гастральный рефлюкс и глотание влияют на количество и состав аспирируемого желудочного содержимого. Тем не менее, примененный метод характеристики стартового дигестивного потенциала пищеварительного тракта новорожденных детей путем

определения ферментативной активности желудочного содержимого нам представляется теоретически реальным и перспективным, что определило исследование данного плана.

Натошковые аспираты желудочного содержимого были получены у 76 новорожденных детей сразу после родов (т.е. в первые сутки) и у 32 еще и на 7-е сутки после них. Как в пробах аспирата желудочного содержимого, полученного в первые сутки жизни доношенных и недоношенных новорожденных, так и в образцах аспирата на 7-е сутки после родов, отмечается чрезвычайно широкий разброс количественных показателей содержания в исследуемой жидкости гидролитических ферментов.

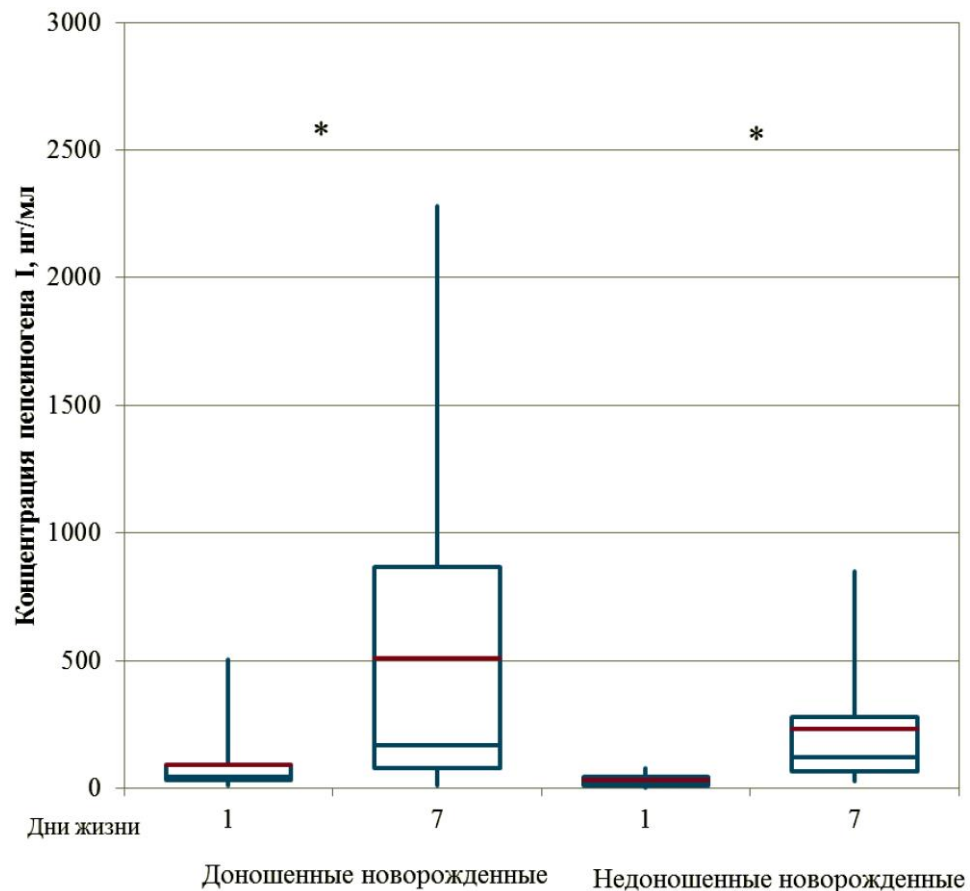
Наиболее вероятной причиной этого могла быть не только индивидуальная асинхронность пре- и постнатального формирования различных ферментных систем плода и новорожденного ребенка, но и различие состояния секреторного и моторного аппаратов детей во время забора материала (аспирации желудочного содержимого) – аспирация после глотания, в результате которого в полость желудка переводится ротовая жидкость с ее достаточно высокой ферментативной активностью; амниотическая жидкость, снижающая концентрацию гидролаз путем разведения желудочного содержимого. Интересно, что у девочек двойни ферментные показатели желудочного аспирата различались, но по всем четырем ферментам и на седьмые сутки после родов были выше, чем сразу после них. Не исключено влияние на концентрацию гидролаз в аспирате желудочного содержимого регургитации в желудок содержимого двенадцатиперстной кишки. Причины variability концентрации гидролаз в желудочном аспирате новорожденных требуют специального изучения.

Тем не менее, представленные данные обращают на себя внимание тем, что у всех недоношенных детей на 7-ой день жизни содержание в желудочном аспирате пепсиногенов I и II было выше, чем в первый день после родов (таблица 4.1).

**Таблица 4.1** – Содержание пепсиногена в аспирате желудочного содержимого доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни (Me (p0,25/p0,75))

Группы	Пепсиноген I (нг/мл)		Пепсиноген II (нг/мл)	
	1	7	1	7
Доношенные дети	45,1 (29,9/92,2)	168,6 (79,9/865,3)	597,4 (166,0/1078,1)	25,2 (9,4/48,6)
Недоношенные дети	21,0 (10,1/46,2)	120,1 (65,9/280,3)	185,8 (88,7/288,4)	666,9 (103,6/1272,7)

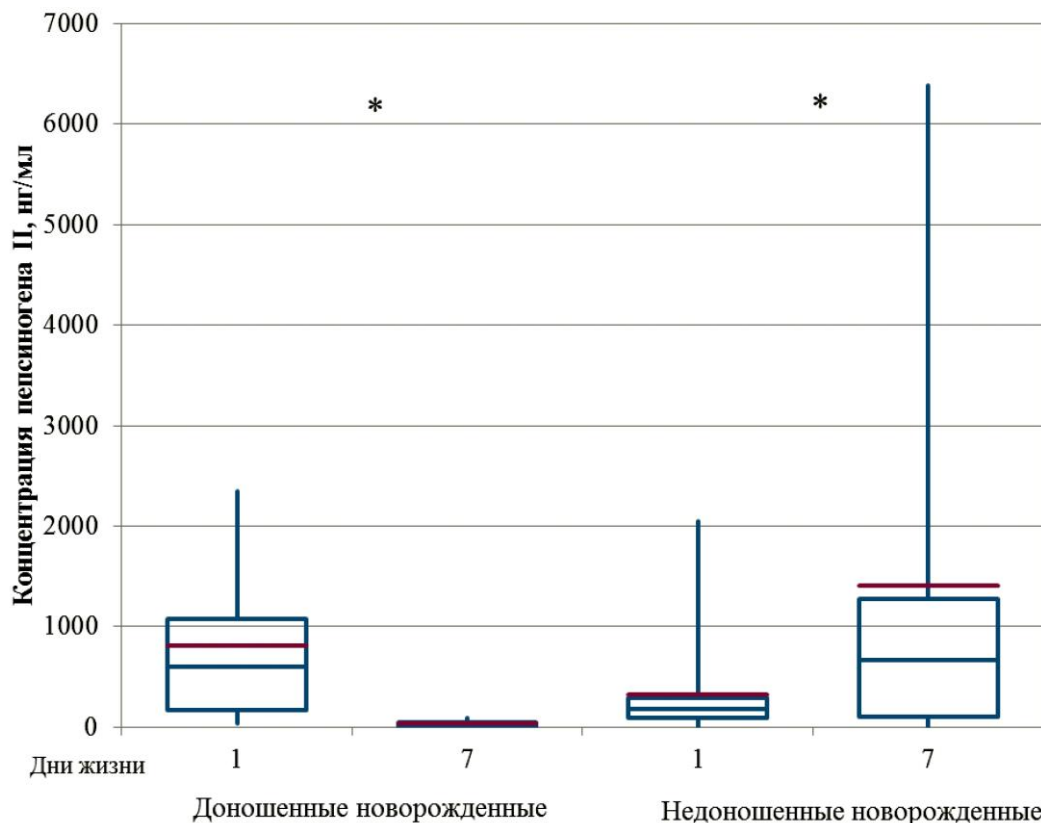
Заметим также, что у доношенных детей в среднем содержание в аспирате пепсиногена I было выше, чем у недоношенных. По содержанию в аспирате пепсиногена II наблюдалась обратная тенденция – после родов показатели концентрации зимогена были в среднем выше, чем на 7-е сутки (рисунок 4.1).



**Рисунок 4.1** – Концентрация пепсиногена I в желудочном аспирате доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни:

\* – статистически значимые различия между показателями в 1-е и 7-е сутки жизни

Это свидетельствует о нарастании уже в первую неделю жизни ферментсинтезирующей деятельности фундальных, антральных и дуоденальных желез, продуцирующих эти зимогены. Данный процесс может иметь компенсаторное и адаптационное значение, так как не наблюдался по пепсиногену II у доношенных, но четко прослеживался у детей с неполным сроком гестации (рисунок 4.2).



**Рисунок 4.2** – Концентрация пепсиногена II в желудочном аспирате доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни:

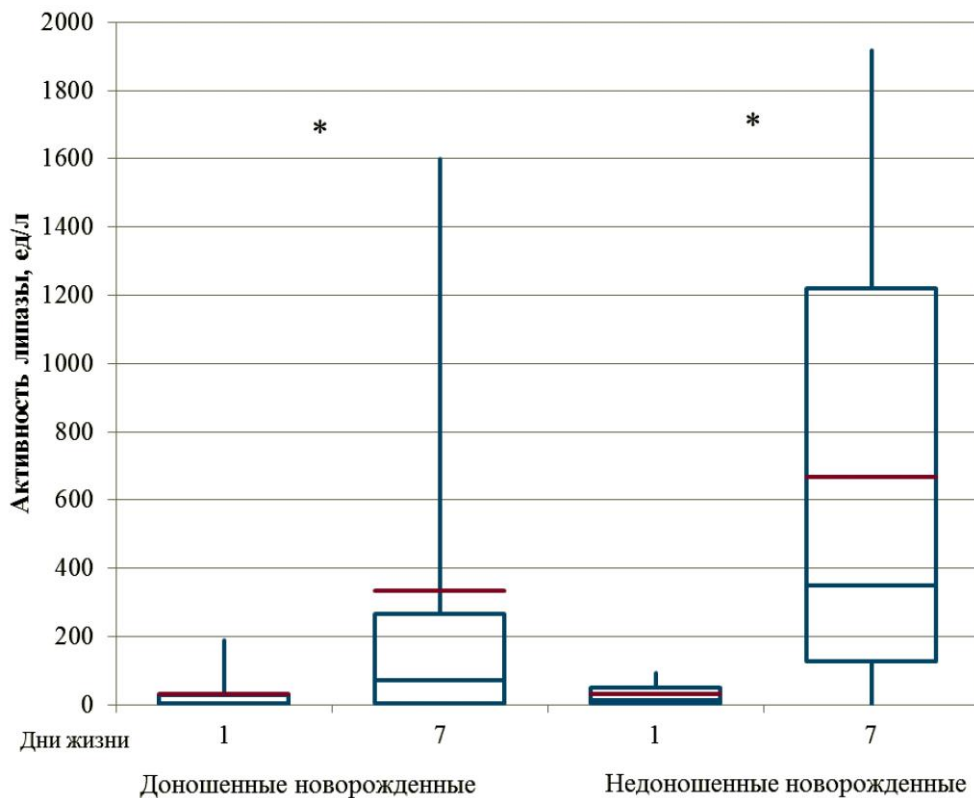
\* – статистически значимые различия между показателями в 1-е и 7-е сутки жизни

В таблице 4.2 представлен цифровой материал по содержанию в аспирате желудочного содержимого липазы и амилазы.

У большинства недоношенных детей на 7-е сутки было выше в аспирате желудочного содержимого было выше содержание липазы (рисунок 4.3) и амилазы, чего не наблюдалось у детей с полным сроком гестации по амилазе (рисунок 4.4), но было у большинства детей по липазе.

**Таблица 4.2** – Активность липазы и амилазы аспирата желудочного содержимого доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни (Me (p0,25/p0,75))

Группы	Липаза (ед/л)		Амилаза (ед/л)	
	1	7	1	7
Доношенные дети	4,8 (2,4/28,8)	70,8 (5,2/268,1)	157,5 (129,5/251,5)	75,0 (6,3/1795,0)
Недоношенные дети	12,4 (4,1/50,7)	351,2 (127,7/1221,2)	144,0 (76,0/228,0)	795,0 (126,4/2154,5)

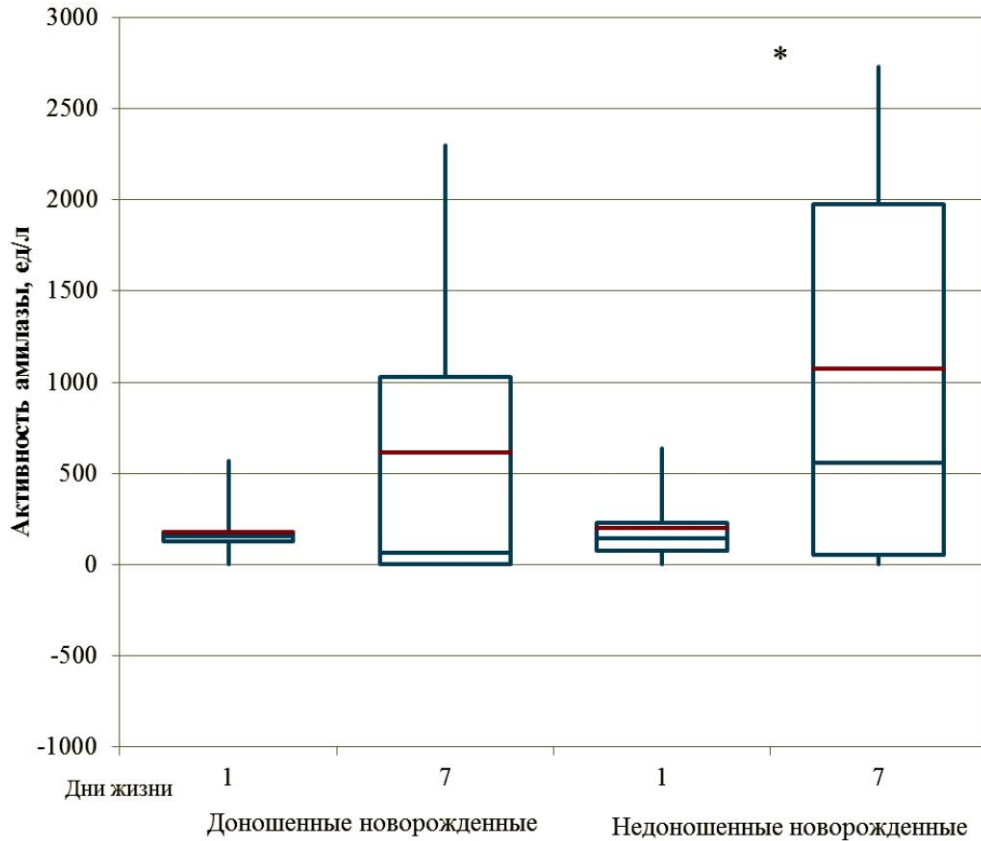


**Рисунок 4.3** – Активность липазы желудочного аспирата доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни:

\* – статистически значимые различия между показателями в 1-е и 7-е сутки жизни

На первых порах можно было предположить, что нарастание ферментативных активностей аспирата желудочного содержимого могло индуцироваться началом молочного вскармливания ребенка. Однако, такая индукция наблюдалась лишь у недоношенных детей и ее не было у детей доношенных. Поэтому возможно допустить, что у недоношенных детей в первую неделю после родов продолжается генетически запрограммированный

процесс нарастания стартового дигестивного потенциала, доведение его до величин, которые он должен иметь при нормальном сроке гестации, и он, действительно, приближается к таковому.



**Рисунок 4.4** – Активность амилазы желудочного аспирата доношенных и недоношенных новорожденных детей в 1 и 7 сутки жизни:

\* – статистически значимые различия между показателями в 1-е и 7-е сутки жизни

При недоношенности ребенка происходит и другое, расцененное нами как адаптационно-компенсаторное явление, – повышение концентрации в грудном молозиве и зрелом молоке раннего срока лактации нутриентов и гидролитических ферментов у матерей, родивших раньше нормального гестационного срока. В целом, эти описанные различия должны стать предметом дальнейшего исследования, и, прежде всего, сравнения ферментных показателей аспирата желудочного содержимого с таковыми других биологических жидкостей (сыворотки крови пуповины и околоплодных вод) при их одновременном получении у новорожденных детей.

## Глава 5

### КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОЛАЗ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ ДОНОШЕННЫХ И НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Результаты определения гидролитической активности сыворотки пуповинной крови, представленные в главе 3, доказали две основные закономерности: во-первых, ферментсинтезирующая функция желез пищеварительной системы у плода и новорожденного сформирована еще не полностью. Это общеизвестный факт возрастной физиологии, неонатологии, перинатологии, акушерства и педиатрии. Второе – онтогенез разных ферментных систем плода асинхронен [Р.К. Данилов, 2011]. Данный факт мы отнесли к числу установленных нами. Он, как нам представляется, является одной из причин большой вариабельности ферментных показателей сыворотки крови пуповины новорожденных. Из-за такой вариабельности гидролазы сыворотки крови пуповины вряд ли могут быть отнесены к достаточно надежным диагностическим критериям в характеристике ферментных систем пищеварительного тракта новорожденных.

Тем не менее, поиск таких критериев из-за их востребованности должен быть продолжен. А поскольку ферменты пищеварительных желез не только экосекретируются в составе секретов в полость пищеварительного тракта, но и эндосекретируются в лимфу, венозный кровоток, переносятся и в системный кровоток, откуда экскретируются и рекретируются, то, следовательно, могут определяться практически в каждой биологической жидкости. Такой специфической жидкостью беременной женщины являются околоплодные воды (ОВ), в которых также содержатся и гидролазы. В последние сроки гестации основным их продуцентом являются пищеварительные железы плода. Поэтому концентрация гидролаз в околоплодных водах является, как и в крови плода и новорожденного ребенка, показателем их морфофункциональной зрелости, прежде всего,



секреторного потенциала пищеварительных желез. Околоплодные воды были нами избраны следующим исследуемым объектом – носителем гидролаз пищеварительных желез новорожденного.

В модельных экспериментах *in vitro* были исследованы гидролитические свойства околоплодных вод, т.е. изучены их энзимологические свойства в отношении субстратного белка – гемоглобина, моделирующего белковое содержимое пищеварительного тракта плода, гидролизуемого в среде проглоченных околоплодных вод и секретов их протеиназами.

Данная, относительно приближенная к амниотрофии, модель имитировала аутолитическое и собственное пищеварение плода.

Третьим объектом характеристики дигестивного потенциала новорожденного ребенка явилось аспирированное из его желудка натошачковое содержимое. Его гидролазы представляют собой сумму ферментов, образованных железами желудка, содержащихся в регургитированном дуоденальном содержимом, являющимся секретом поджелудочной железы и слизистой оболочки тонкой кишки (в том числе двенадцатиперстной кишки), в проглоченных околоплодных водах и ротовой жидкости (смешанной слюны). Данное натошачковое содержимое относительно стабильно по объему и составу, так как у новорожденных еще нет периодической секреторной активности пищеварительных желез [А.В. Аболенская, 1981].

В связи с тем, что присутствие гидролаз в околоплодных водах обеспечивается, по утверждению ряда исследователей, и пищеварительными железами беременной [П.И. Цапок, В.Н. Дроздов, 1986], четвертой биожидкостью, исследованной на содержание гидролаз, была сыворотка венозной крови роженицы, также взятой у женщины из локтевой вены в конце родов.

Проведенное исследование содержания одних и тех же гидролитических ферментов в различных четырех биологических жидкостях позволило сравнительно характеризовать их информационные возможности в количественном определении дигестивного ферментного потенциала

новорожденного, сформированного в фетальный период индивидуального развития ребенка, и кроме того, расширить существующие знания о происхождении гидролаз разных пищеварительных желез в разных биожидкостях.

### **5.1. Гидролитические ферменты сыворотки крови родильниц и сыворотки крови пуповины новорожденных при нормальных и неполных сроках гестации**

Доказано, что содержание гидролаз пищеварительных желез в сыворотке и плазме крови в первую очередь обеспечивается ферментным потенциалом желез-продуцентов соответствующих ферментов, то есть числом и активностью синтезирующих их glanduloцитов [М.Г. Закс, В.Н. Никитин, 1975]. Как свидетельствуют полученные нами результаты, в сыворотке крови родильниц содержание всех гидролаз существенно выше (таблица 5.1), чем в сыворотке крови пуповины (таблица 5.2). Это отражает неполную сформированность ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденных детей. Для разных гидролаз стартовый уровень различен, что свидетельствует об асинхронности морфофункционального созревания ферментных систем пищеварительного тракта плода и новорожденного. Так, особенно отстают в развитии продуценты пепсиногенов – железы желудка (это более выражено в отношении пепсиногена I, продуцируемого фундальными железами – шестикратное различие) и продуцентов  $\alpha$ -амилазы – слюнных и поджелудочной желез, имевших при нормальной гестации семикратное различие. Содержание липазы, синтезируемой слюнными, желудочными и поджелудочной железами, в сыворотке крови пуповины примерно в три раза ниже, чем в сыворотке крови родильниц при доношенной и недоношенной беременности (таблица 5.3). При недоношенной беременности наблюдается резкое снижение содержания в сыворотке крови пуповины амилазы и пепсиногена I, их соотношения с таковыми в крови родильниц возросли до одиннадцатикратного различия (знаменатель в таблице 5.3).

Показатели ферментативной активности гидролаз сыворотки крови родильниц, родивших доношенных и недоношенных детей не различались в содержании ферментов в сыворотке крови (рисунок 5.1). Исключение составила только щелочная фосфатаза, имеющая полиорганное происхождение (таблица 5.1).

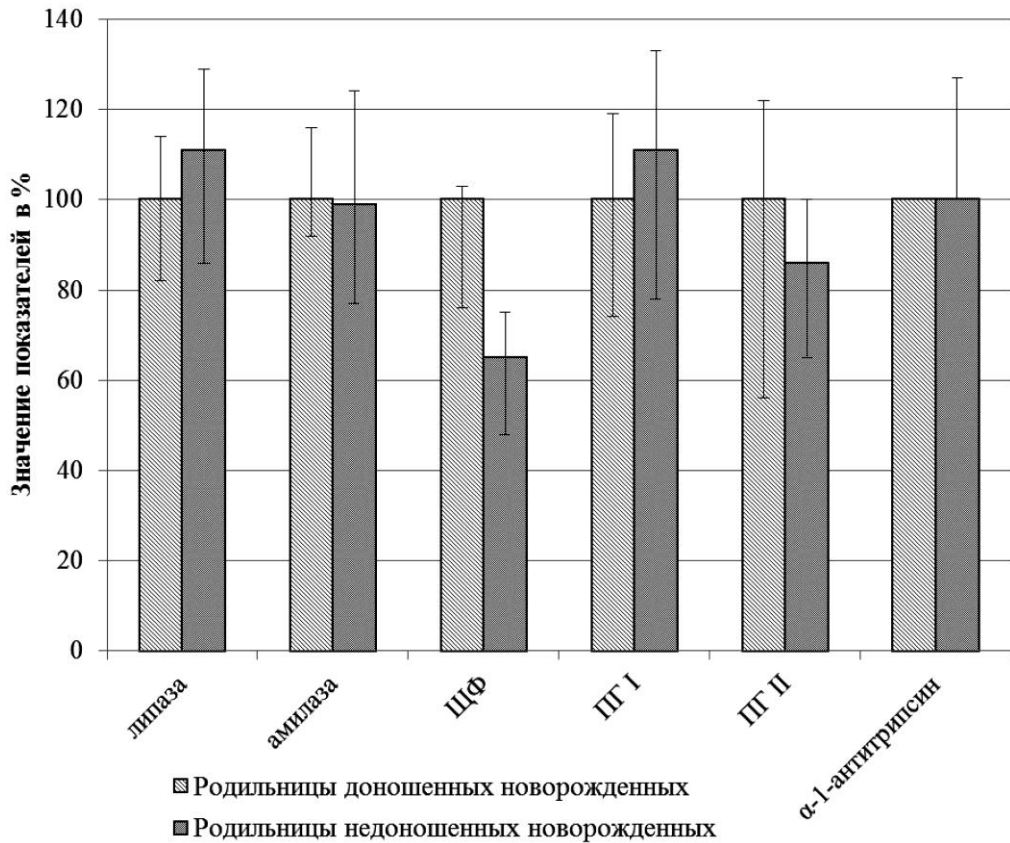
Сыворотка пуповинной крови у недоношенных детей содержала амилазу и пепсиноген I и пепсиноген II в более низкой концентрации, чем сыворотка крови пуповины доношенных новорожденных (таблица 5.2).

Выраженное снижение амилалитической активности секретов пищеварительных желез у недоношенных детей может стать причиной мальдигестии при смешанном и искусственном вскармливании ребенка, так как большинство питательных смесей содержат полисахариды, гидролизующиеся  $\alpha$ -амилазой. Грудное молоко этого субстрата не содержит.

**Таблица 5.1** – Гидролазы сыворотки крови родильницы

Ферменты	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Направление сдвига, статистическая значимость
Липаза (ед/л)	<u>28,80</u> 30,30	<u>27,29</u> 30,30	<u>7,10</u> 8,40	<u>63,50</u> 51,90	<u>22,35</u> 23,35	<u>31,10</u> 35,20	$p > 0,10$
Амилаза (ед/л)	<u>52,97</u> 52,28	<u>52,97</u> 52,28	<u>4,00</u> 3,00	<u>82,00</u> 78,00	<u>48,50</u> 41,00	<u>61,50</u> 65,50	$p > 0,10$
ЩФ (ед/л)	<u>182,50</u> 120,80	<u>181,00</u> 118,50	<u>94,00</u> 56,00	<u>441,00</u> 235,00	<u>137,00</u> 87,00	<u>185,50</u> 136,00	$\downarrow p < 0,001$
Пг I (нг/мл)	<u>50,74</u> 56,23	<u>49,62</u> 55,30	<u>8,40</u> 4,50	<u>106,00</u> 215,90	<u>36,65</u> 38,35	<u>58,80</u> 66,35	$p > 0,10$
Пг II (нг/мл)	<u>8,88</u> 7,79	<u>8,74</u> 7,55	<u>2,70</u> 1,70	<u>33,10</u> 17,50	<u>4,90</u> 5,65	<u>10,70</u> 8,75	$p > 0,10$
$\alpha$ -1-анти- трипсин	<u>0,30</u> 0,47	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 2,38	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 0,38	$p < 0,025$

Примечание: ЩФ – щелочная фосфатаза, Пг – пепсиноген. Числитель – родильницы доношенных, знаменатель – родильницы недоношенных детей.



**Рисунок 5.1** – Гидролазы сыворотки крови родильницы:  
Пг – пепсиногены I и II, ЩФ – щелочная фосфатаза

**Таблица 5.2** – Гидролазы сыворотки крови пуповины ( $n = 76$ )

Ферменты	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Направление сдвига, статистическая значимость
Липаза (ед/л)	<u>10,72</u> 10,49	<u>10,12</u> 10,00	<u>5,70</u> 5,40	<u>21,30</u> 18,80	<u>8,30</u> 8,30	<u>12,10</u> 12,60	$p > 0,10$
Амилаза (ед/л)	<u>9,00</u> 4,72	<u>8,50</u> 4,00	<u>1,00</u> 0,00	<u>52,00</u> 16,00	<u>5,00</u> 2,00	<u>9,00</u> 6,00	$\downarrow p < 0,01$
ЩФ (ед/л)	<u>157,53</u> 166,53	<u>157,53</u> 171,00	<u>97,00</u> 11,00	<u>243,00</u> 274,00	<u>119,00</u> 134,00	<u>181,50</u> 200,50	$p > 0,10$
Пг I (нг/мл)	<u>10,92</u> 4,82	<u>8,45</u> 4,20	<u>3,40</u> 1,10	<u>55,10</u> 12,20	<u>6,75</u> 2,60	<u>10,92</u> 6,10	$\downarrow p < 0,001$
Пг II (нг/мл)	<u>5,55</u> 3,44	<u>3,80</u> 1,85	<u>1,80</u> 0,40	<u>36,70</u> 30,00	<u>2,40</u> 0,90	<u>5,55</u> 4,65	$\downarrow p < 0,001$
α-1-анти- трипсин	<u>1,33</u> 1,30	<u>1,33</u> 1,29	<u>0,84</u> 0,48	<u>2,95</u> 2,66	<u>1,22</u> 0,97	<u>1,40</u> 1,62	$p > 0,10$

Примечание: ЩФ – щелочная фосфатаза, Пг I – пепсиноген I, Пг II – пепсиноген II.  
Числитель – доношенные, знаменатель – недоношенные дети.

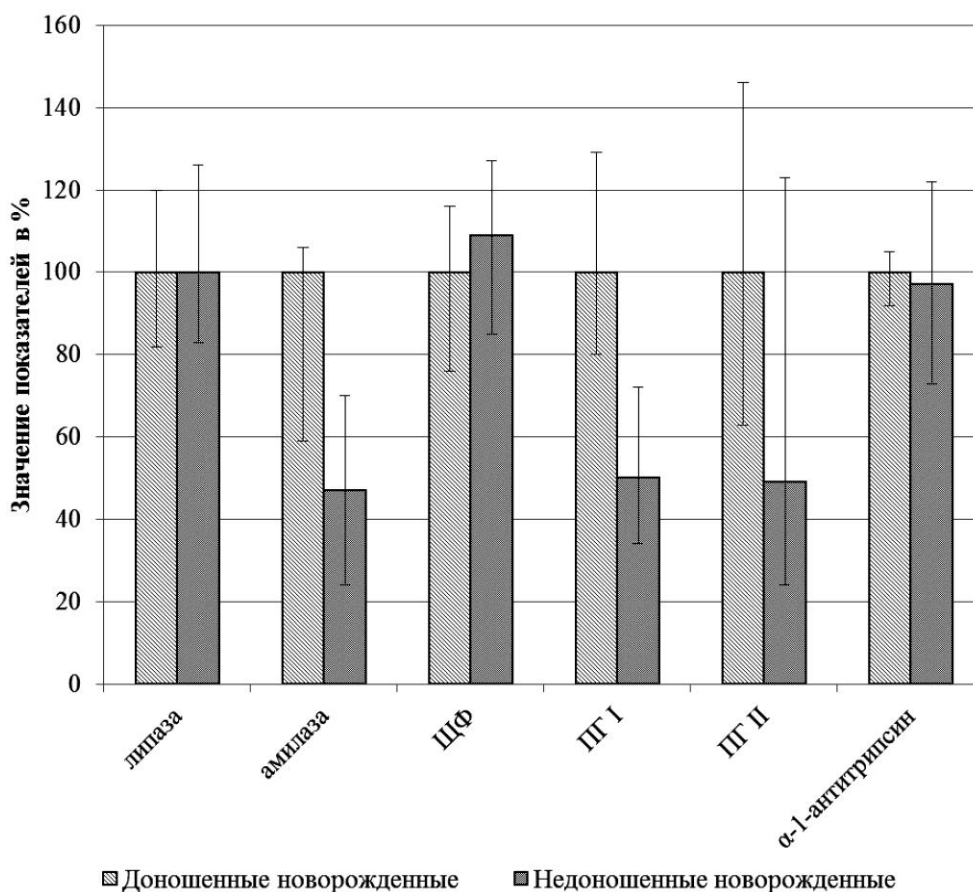
Недоношенность гестации резко снижает и без того еще несформированный потенциал фундо-антро-дуоденальных продуцентов пепсиногенов [D.C. Dallas, M.A. Underwood, A.M. Zivkovic, 2012]. В связи с актуальностью гастрального эндопротеолиза казеина молока на ранних этапах лактотрофии снижение пептического потенциала желудка может отразиться на метаболизме протеинов недоношенных детей с пониженным пептическим потенциалом секреции желудка [D.C. Dallas et al., 2012]. То есть, снижение секреции пепсиногенов железами желудка новорожденных чревато мальдигестией казеина молока, так как пепсины как эндопептидазы предваряют последующий гидролиз образованных дипептидов и олигопептидов тонкокишечными пептидазами по типу пристеночного пищеварения.

Недоношенность новорожденных не влияет на содержание липазы в сыворотке крови пуповины (рисунок 5.2). Это свидетельствует о том, что низкий стартовый уровень продукции липазы пищеварительными железами плода формируется в более ранние сроки гестации, чем других учтенных в исследовании гидролаз, завершаясь к началу третьего триместра беременности, то есть, когда плод уже считается жизнеспособным.

Такая ситуация с липолизом в ранние сроки лактотрофии позволяет видеть в ее обеспечении большое значение высокой ферментативной, в том числе липолитической активности молозива и важной роли в липолизе липаз молока в аутолитическом пищеварении по типу индуцированного и тонкокишечного желчезависимого полостного пищеварения [Ф.А. Абдуллаев, 1965; А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук, 2003; Г.Ф. Коротько, У.М. Мирзакаримов, 2014].

Представляется диагностически важным и ценным определение содержания и соотношения содержания гидролаз в сыворотке крови родильницы (при условии отсутствия патологии органов пищеварения и нормальных показателей ферментов в сыворотке или плазме крови) – и сыворотке крови пуповины новорожденного. Средними величинами

(таблица 5.3) различия (в разях) его ферментного потенциала относительно такового матери с нормальным сроком гестации составляет по липазе – 3,0; амилазе – 7; пепсиногену I – 6; пепсиногену II – 2,5–3. При недоношенной беременности эти соотношения по амилазе и пепсиногену I резко возрастают до 11,0 за счет сниженной продукции этих ферментов glanduloцитами соответствующих желез.



**Рисунок 5.2** – Гидролазы сыворотки крови пуповины:

ПГ – пепсиногены I и II, ЩФ – щелочная фосфатаза

**Таблица 5.3** – Соотношение (разы) медиан содержания гидролаз в сыворотке крови родильниц и сыворотке крови пуповины новорожденных при доношенной (числитель) и недоношенной (знаменатель) беременностях

Липаза	Амилаза	Щелочная фосфатаза	Пепсиноген I	Пепсиноген II
<u>2,89</u>	<u>7,1</u>	<u>1,15</u>	<u>6,3</u>	<u>2,79</u>
2,88	10,7	0,69	11,3	3,37

Не менее выразительны представленные в процентах показатели содержания ферментов в сыворотке крови пуповины новорожденного по отношению к таковым сыворотки венозной крови родильницы. По липазе при доношенной и недоношенной гестации это соотношение равно 35,0 %, что подтверждает раннее начало формирования липолитической системы плода, на что уже обращено внимание. Сыворотка крови пуповины имела при доношенной гестации в среднем 14,0 % содержания амилазы от такового в сыворотке крови матери, при недоношенной гестации – 9,4 %. Такие цифровые данные свидетельствуют о наиболее позднем формировании амилолитической системы пищеварительных желез и существенном его отставании при недоношенной гестации.

Пепсиноген I, дающий активную протеазу при низких значениях pH не актуален в ранние сроки лактотрофии и его содержание в крови у доношенного ребенка составляет 15,9 % от содержания того же фермента в сыворотке материнской крови. При недоношенности наличие (т.е. синтез) этого фермента в два раза ниже – 8,8 % такового у матери. Содержание пепсиногена II в пуповинной крови относительно высокое при доношенной беременности и составляет 36,2 % такового в сыворотке крови матери, а при недоношенности существенно ниже – 30,2 % от материнского показателя в сыворотке крови. Такие показатели отражают стартовый уровень адаптированности синтеза и секреции данной протеиназы к гидролизу казеина в лактотрофии новорожденных, адаптированность к ней секреции желудочных желез.

Следовательно, техническим преимуществом в оценке ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденного является определение амилазы, липазы, пепсиногенов I и II в сыворотке крови пуповины новорожденного и в сыворотке крови его родильницы с вычислением их отношения, так как принятые ферментные показатели взрослых здоровых женщин имеют очень широкий референсный интервал. Этот прием представляется нам практически значимым. Возможно использование рекомендованного как норма для здоровых взрослых людей содержание

пепсиногенов в сыворотке крови по «Гастротесту»: пепсиноген I – 30–165 мкг/л, пепсиноген II – 3–25 мкг/л, но они имеют весьма большой диапазон (референсные интервалы для пепсиногенов). Фактические ферментные показатели родильницы должны соответствовать рекомендованному как норма диапазону содержания соответствующего фермента в сыворотке крови (с учетом метода его определения). Референсные интервалы для сыворотки крови родильницы других ферментов: липаза – 8–70 Ед/л; амилаза – 28–100 Ед/л; щелочная фосфатаза – 35–104 Ед/л. Полученные нами величины соответствовали указанным величинам у родильниц по двум пепсиногенам и другим ферментам. Некоторое превышение активности щелочной фосфатазы могло быть отнесено к эффектам прошедших родов [С.В. Лелевич, 2010]. Для сыворотки крови пуповины референсных интервалов для использованного нами метода мы в литературе не обнаружили.

И, наконец, о соотношении двух пепсиногенов в сыворотке крови, которому придают решающее значение в диагностике заболеваний желудка. У наблюдавшихся нами 36 родильниц с нормальными сроками гестации отношение медиан двух пепсиногенов (Пг I = 49,6/Пг II = 8,7 мкг/л) составило 5,7. У их новорожденных соответственно (8,45 и 3,80 мкг/л) – 2,2. При недоношенной гестации у родильниц соотношение (55,3/7,55 мкг/л) было существенно выше за счет большей величины медианы Пг I (55,3/7,55 мкг/л), составив 7,3. Соответственно, у недоношенных новорожденных соотношение более низких значений двух пепсиногенов – Пг I (4,2) и Пг II (1,85) было тем же, что при доношенной гестации, то есть 2,2.

## **5.2. Ферменты пищеварительных желез в околоплодных водах**

Результаты анализа околоплодных вод подтвердили содержание в них основных гидролитических ферментов пищеварительных желез [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996; Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько, В.А. Хорольский, 2017] (таблица 5.4).



Таблица 5.4 – Гидролазы околоплодных вод

Ферменты	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Направление сдвига, статистическая значимость
Липаза (ед/л)	<u>2,00</u> 4,64	<u>1,90</u> 4,05	<u>0,90</u> 0,90	<u>4,90</u> 33,40	<u>1,45</u> 2,10	<u>2,35</u> 4,64	↑ p < 0,01
Амилаза (ед/л)	<u>182,73</u> 67,40	<u>146,50</u> 65,70	<u>37,00</u> 16,00	<u>537,00</u> 162,00	<u>92,00</u> 47,00	<u>229,00</u> 84,50	↓ p < 0,01
ЩФ (ед/л)	<u>182,94</u> 38,74	<u>132,50</u> 23,50	<u>18,00</u> 0,00	<u>999,00</u> 396,00	<u>74,00</u> 14,00	<u>167,50</u> 44,00	↓ p < 0,01
ПгI (нг/мл)	<u>33,95</u> 19,28	<u>29,85</u> 17,90	<u>10,40</u> 7,00	<u>106,00</u> 63,10	<u>24,85</u> 13,40	<u>38,00</u> 19,90	↓ p < 0,01
ПгII (нг/мл)	<u>545,79</u> 254,47	<u>493,05</u> 124,40	<u>100,00</u> 14,10	<u>1635,90</u> 1631,60	<u>320,80</u> 57,15	<u>733,70</u> 254,47	↓ p < 0,01
α-1-анти- трипсин	<u>4,43</u> 1,21	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 0,30	<u>30,00</u> 30,00	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 0,39	↑ p < 0,005

Примечание: ЩФ – щелочная фосфатаза, Пг – пепсиноген. Числитель – доношенные, знаменатель – недоношенные дети.

Нами впервые обнаружены в околоплодных водах две изоформы пепсиногена – пепсиноген I и пепсиноген II, которые в настоящее время с диагностической целью часто определяются в сыворотке крови человека и характеризуют синтез и секрецию фундальных (пепсиноген I) и антродуоденальных (пепсиноген II) желез желудка [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996]. Эти же информационные критерии могут иметь пепсиногены околоплодных вод в отношении желез новорожденного.

Содержание в околоплодных водах пепсиногена II почти в 20 раз больше, чем пепсиногена I. Так, в 74 из 76 проб околоплодных вод концентрация пепсиногена II была выше, чем пепсиногена I. Это косвенно свидетельствует, что пепсиноген II является фетальным пепсиногеном, свойства которого существенно отличаются от пепсиногена и пепсина взрослого человека: он активен при нейтральных и слабокислых значениях

pH и адаптирован к гидролизу казеина [А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук, 2003; А.М. Запруднов, К.И. Григорьев, Л.А. Харитонова, Л.В. Богомаз, 2013; P. Ferranti, M.V. Traisci, G. Picariello et al., 2004].

Есть основания рассматривать эти факты аргументом в пользу в основном фетального происхождения гидролаз, прежде всего – пепсиногенов, в околоплодных водах. Об этом же свидетельствуют:

– умеренные статистически значимые корреляционные связи содержания одноименных ферментов в околоплодных водах и содержимом желудка: для  $\alpha$ -амилазы  $r = 0,57$ , для пепсиногена II  $r = 0,60$ ;

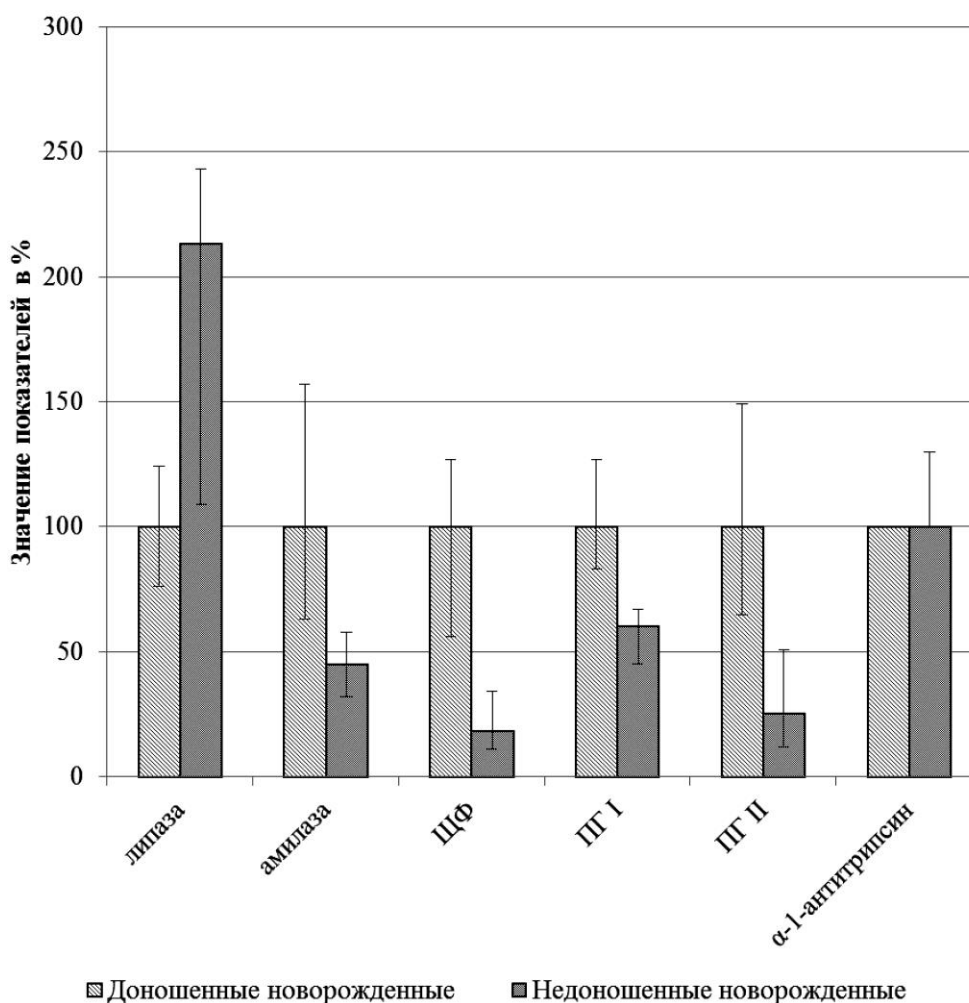
– сильная статистически значимая взаимосвязь между пятью ферментами околоплодных вод и содержимого желудка, коэффициент канонической корреляции  $R_{кан} = 0,82$ ; (каноническая корреляция характеризует степень, или силу, взаимосвязи между двумя списками переменных).

– умеренные статистически значимые корреляционные связи содержания гидролаз в околоплодных водах и сыворотке крови пуповины: для  $\alpha$ -амилазы  $r = 0,63$ ; для пепсиногена I  $r = 0,68$ ; для пепсиногена II  $r = 0,50$ ; для щелочной фосфатазы  $r = 0,52$ .

Поставщиками гидролаз околоплодных вод в разные периоды гестации являются разные органы. Накануне родов – это в основном пищеварительные железы плода. Следовательно, их гидролазы могут быть информативны при оценке индивидуальной морфофункциональной зрелости пищеварительных желез плода и новорожденного.

При недоношенной беременности околоплодные воды содержат все гидролазы, за исключением липазы, в меньшей концентрации, чем при доношенной гестации (рисунок 5.3).

По щелочной фосфатазе эти различия в среднем пятикратные, по другим гидролазам почти двух-трех кратные. По всем гидролазам снижение ферментативной активности статистически высоко достоверно ( $p < 0,01$ ).



**Рисунок 5.3** – Гидролазы околоплодных вод:  
 ПГ – пепсиногены I и II, ЩФ – щелочная фосфатаза

Обращает на себя внимание высокая амилолитическая активность околоплодных вод, в 2–3 раза превышающая таковую сыворотки крови родильницы и почти в 20 раз – сыворотки пуповинной крови доношенного новорожденного ребенка. Это объясняется включением в состав околоплодных вод не только и не столько инкретированной пищеварительными железами амилазы и уроамилазы, но и амилазы ротовой жидкости (слюны) рефлюксированного содержимого желудочно-кишечного тракта новорожденного. Этот компонент механизма формирования ферментного состава околоплодных вод нами назван впервые.

О различии механизма происхождения гидролаз пищеварительных желез в системном кровотоке новорожденного, его матери и околоплодных водах

свидетельствует высокое содержание в околоплодных водах пепсиногена II, которое, в отличие от сыворотки крови, многократно (!) выше, чем содержание пепсиногена I. Это явление нами обнаружено впервые. В какой-то мере это можно объяснить ранним созреванием у плода клеток-продуцентов тонкокишечных ферментов, а пепсиноген II продуцируется в основном пилорическими и дуоденальными, а не фундальными желудочными железами. Этим и объясняется достаточно высокое содержание данного изофермента в околоплодных водах и при недоношенной гестации. Не исключено попадание в околоплодные воды и регургитированного желудочного содержимого, то есть в результате дуодено-гастро-эзофаго-орального рефлюкса, который у новорожденных является достаточно частым явлением [А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук, 2003] и в содержимом желудка новорожденных нами документировано более высокое содержание пепсиногена II, чем пепсиногена I.

Проведен анализ зависимости содержания гидролитических ферментов и пепсиногенов в околоплодных водах от задержки внутриутробного развития плода. Среди доношенных 36 новорожденных выявлено 5 детей с признаками задержки развития, у которых выявлена достаточно четкая тенденция к понижению содержания в околоплодных водах липазы,  $\alpha$ -амилазы, щелочной фосфатазы, пепсиногена I и особенно пепсиногена II (в среднем на 17 %). У недоношенных 14 детей с задержкой внутриутробного развития в околоплодных водах отмечено повышение среднего содержания липазы (на 40 %),  $\alpha$ -амилазы (на 12 %), щелочной фосфатазы (на 51 %), пепсиногена I (на 20 %) и пепсиногена II (на 76 %). Мы воздерживаемся от объяснения данных подвижек, имеющих, возможно, адаптационное значение. Да и высокая концентрация гидролаз в околоплодных водах, при низкой концентрации общего белка в них, требует специального исследования механизма данного явления.

Достаточно высокая гидролитическая активность околоплодных вод, большой объем их транспорта в пищеварительный тракт посредством

глотания, дыхания и всасывания позволяет сделать заключение об участии гидролаз околоплодных вод в аутолизе нутриентов, обеспечивая тем самым амниотрофию [Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько, диплом № 499 на открытие, 2017; M.H. Beall, J.P. Wijngaard, M.J. Gemertetal, 2007].

Трехчасовая инкубация стерильных околоплодных вод при 37 °С и рН 7 не выявила аутолиза их нутриентов, т.к. содержание в инкубатах свободных аминокислот, как продуктов гидролиза эндогенных белков; глюкозы, как продукта гидролиза эндогенных углеводов; жирных кислот, как продуктов липолиза, не повышалось. Это могло быть не только результатом низкой ферментативной активности (или отсутствия) в околоплодных водах соответствующих гидролаз, но и низкого содержания в них гидролизуемого субстрата. Применение классических биохимических методов определения ферментативной активности гидролаз с использованием в качестве субстратов соответствующих нутриентов – белка (гемоглобина) и растворимого крахмала выявило протеолитическую (триптическую и пептическую) и амилолитическую активности околоплодных вод.

Так, амилолитическая активность, определенная амилокластическим методом, составила при рН 8 в четырех пробах ОВ: 1,99; 2,62; 2,17 и 2,84 мг/мл×мин. Триптическая активность, определенная по Ансону с щелочным гемоглобиновым субстратом при рН 8 в трех пробах околоплодных вод в среднем составила: 0,613; 0,117; 0,413 ммоль/л тирозина (тир. ед). пептическая активность при рН 4,9 (по Ансону с кислым гемоглобиновым субстратом) составила у трех порций околоплодных вод: 0,310; 0,260; 0,285 ммоль/л тирозина (тир. ед.). По данным результатам можно заключить, что наличие гидролизуемого субстрата проявляет соответствующую гидролитическую активность околоплодных вод, что частично моделирует ситуацию в пищеварительном тракте плода, систематически заглатывающего околоплодные воды.

Более адекватно данный процесс действия ферментов околоплодных вод в пищеварительном тракте моделируется *invitro* внесением в инкубируемые

околоплодные воды экзогенных пепсина или трипсина. За время такой инкубации образовывалось большее количество тирозина, чем при действии самих околоплодных вод на соответствующий субстрат – гемоглобин. В данном варианте моделирования гидролиза нами отмечено суммирование гидролитических пептических или триптических эффектов протеиназ околоплодных вод и внесенных в микродозах пепсина или трипсина, имитирующих экзосекреторные гидролазы желёз плода. В данной модели, как нам представляется, воспроизводится пищеварение, обеспечивающее питание, названное И.А. Аршавским [И.А. Аршавский, М.П. Немец, 1996] амниотрофным, амниотрофией. (Использованные растворы кристаллических ферментов содержали по 10 мг трипсина или пепсина, или амилазы в 100 мл дистиллированной воды. При каждом определении к 0,1 мл околоплодных вод добавляли по 0,1 мл соответствующего раствора). Всегда добавление к ОВ (0,1 мл) раствора того или иного фермента повышало активность смеси, но очень незначительно. Однако общая активность гидролаз не была суммой двух активностей, и тем более не имела места индукция (то есть больше суммы двух активностей). Следовательно, мы не могли наблюдать ни индукции ферментативной активности околоплодных вод, ни суммирования активностей ОВ и экзосекретированных фетальными железами ферментов. Прибавка активностей в «коктейле» была значительно меньше суммы. Возможно, это происходит *invitro*, но требует специального биохимического изучения на адекватных моделях.

### **5.3. Ферменты желудочного содержимого**

Задачи настоящего исследования и приведенные выше их результаты потребовали одновременного параллельного исследования ферментов содержимого желудка новорожденных, которое формируется несколькими пищеварительными железами, о чем сказано выше. Результаты данного исследования приведены в таблице 5.5

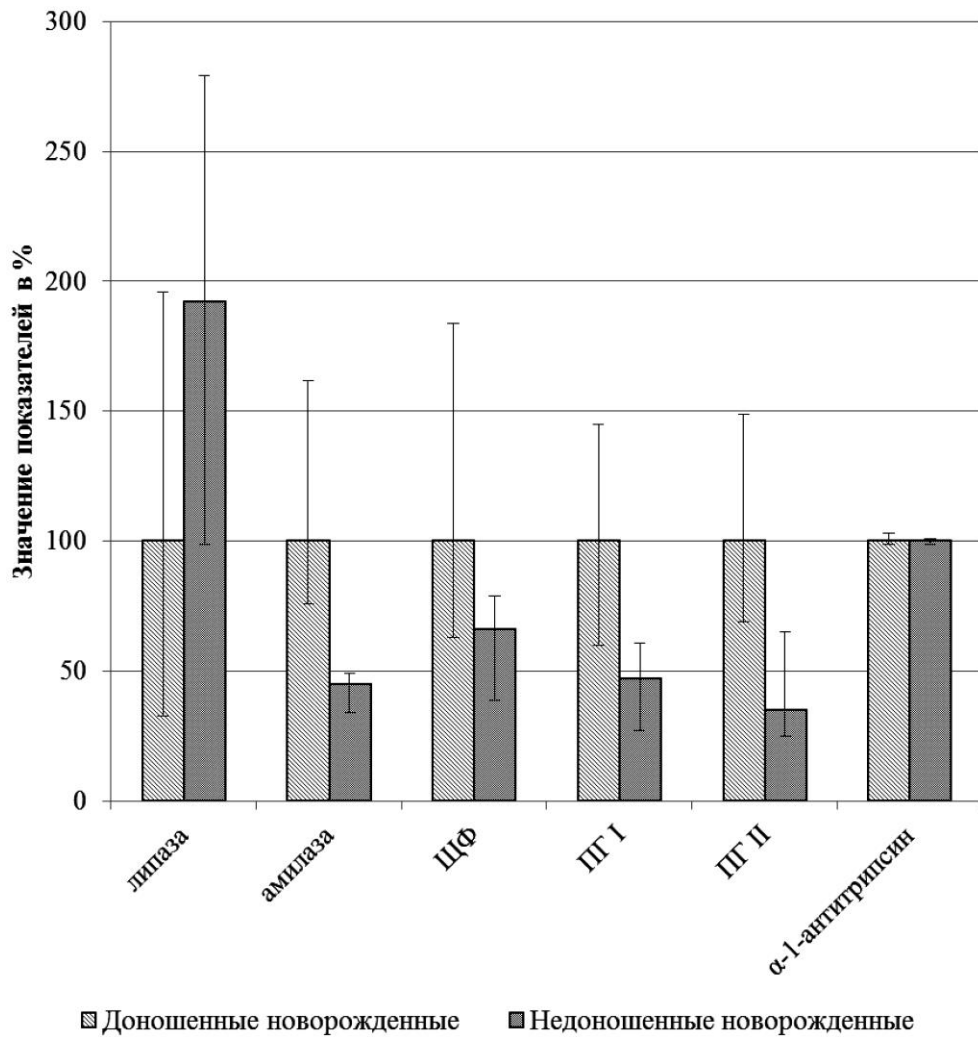
**Таблица 5.5** – Гидролазы содержимого желудка (первые сутки жизни новорожденных)

Ферменты	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Направление сдвига, статистическая значимость
Липаза (ед/л)	<u>43,68</u> 40,47	<u>10,65</u> 20,50	<u>0,30</u> 0,10	<u>270,00</u> 244,10	<u>2,5</u> 4,45	<u>48,75</u> 41,94	↓ p > 0,100
Амилаза (ед/л)	<u>278,03</u> 92,03	<u>204,00</u> 92,03	<u>12,00</u> 3,00	<u>1289,00</u> 237,00	<u>140,00</u> 44,00	<u>340,00</u> 103,00	↓ p < 0,001
ЩФ (ед/л)	<u>423,23</u> 55,31	<u>70,00</u> 46,00	<u>21,00</u> 3,00	<u>4988,00</u> 397,00	<u>32,00</u> 19,50	<u>389,00</u> 55,31	↓ p < 0,001
ПгI (нг/мл)	<u>133,74</u> 42,70	<u>90,85</u> 42,70	<u>4,10</u> 0,00	<u>907,50</u> 150,10	<u>44,60</u> 19,80	<u>133,75</u> 58,15	↓ p < 0,001
ПгII (нг/мл)	<u>1125,03</u> 573,64	<u>1108,96</u> 388,15	<u>100,60</u> 0,00	<u>3087,80</u> 2648,70	<u>679,25</u> 148,55	<u>1761,10</u> 861,00	↓ p < 0,001
α-1-анти- трипсин	<u>0,32</u> 0,31	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,45</u> 0,48	<u>0,30</u> 0,30	<u>0,32</u> 0,31	p > 0,100

Примечание: ЩФ – щелочная фосфатаза, Пг – пепсиноген. Числитель – доношенные, знаменатель – недоношенные дети.

Обращает на себя внимание, во-первых, высокое содержание в извлеченной из желудка жидкости амилазы и пепсиногенов, особенно пепсиногена II (рисунок 5.4); во-вторых, обязательная во всех 76 пробах желудочного содержимого большая концентрация пепсиногена II, чем пепсиногена I, что наблюдалось и в околоплодных водах и отмечено выше как открытое нами явление; в-третьих, принципиальное сходство по направленности сдвигов концентрации или активности ферментов в содержимом желудка и околоплодных водах – их снижение при недоношенной беременности.

Это интерпретировано нами как результат дуоденогастральной регургитации в пищевод, из него в ротовую полость и далее в полость амниона, и является открытием важного еще одного физиологического пути поступления и формирования в околоплодных водах высокой концентрации



**Рисунок 5.4** – Гидролазы содержимого желудка:  
 ПГ – пепсиногены I и II, ЩФ – щелочная фосфатаза

гидролаз пищеварительных желез. Высокая ферментативная активность содержимого желудочно-кишечного тракта, обеспечиваемая фетальными ферментами пищеварительных желез и энтероцитов, участвует в реализации полостного, пристеночного и внутриклеточного пищеварения плода, в том числе его амниотрофии. Статистически значимое более низкое содержание ферментов в желудочном содержимом недоношенных детей (таблица 5.5) является результатом сниженной секреторной активности и glanduloцитов желез двенадцатиперстной кишки, антрального и фундального отделов желудка, слюнных желез, их морфофункциональной незрелости.

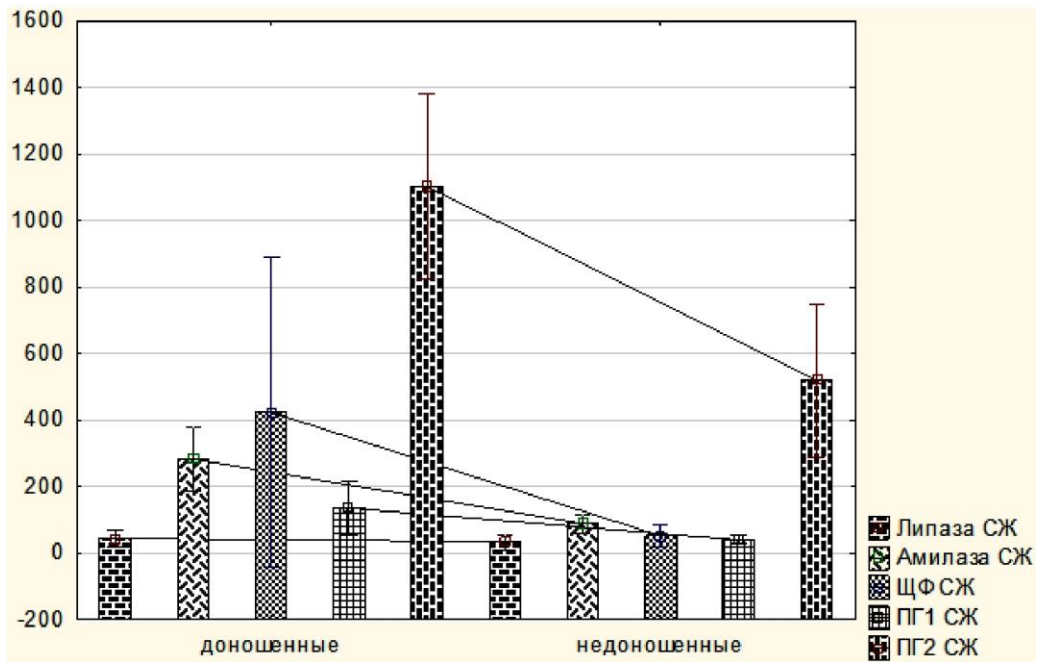


#### **5.4. Современные методы анализа данных в определении стартового дигестивного потенциала новорожденных**

Для определения дигестивного полиферментного статуса доношенных и недоношенных новорожденных по содержанию гидролитических ферментов в натошачевом аспирате содержимого желудка и сыворотке крови пуповины методами анализа данных была исследована кластерная структура новорожденных, показана целесообразность выделения двух групп доношенных детей дигестивного полиферментного статуса и трех групп недоношенных детей полиферментного статуса, разработаны алгоритмы, позволяющие с высокой достоверностью предсказывать группу новорожденного по ферментному статусу. При решении указанных задач использовали методы прикладной статистики – кластерный анализ, дискриминантный анализ, деревья классификации, дисперсионный анализ, реализованные в пакете STATISTICA (А.А. Халафян, 2010).

Анализ содержания гидролитических ферментов: амилаза (ед/л), щелочная фосфатаза (ед/л), липаза (ед/л), пепсиноген I (нг/мл) и пепсиноген II (нг/мл) в различных биожидкостях новорожденных показал существенные отличия их содержания у доношенных и недоношенных детей. На рисунке 5.5 представлены средние значения ферментов с 95 % доверительными интервалами у доношенных и недоношенных детей. Видно, что среднее содержание всех ферментов в аспирате желудка у доношенных детей больше, чем у недоношенных детей, а в большинстве случаев, превышает в разы.

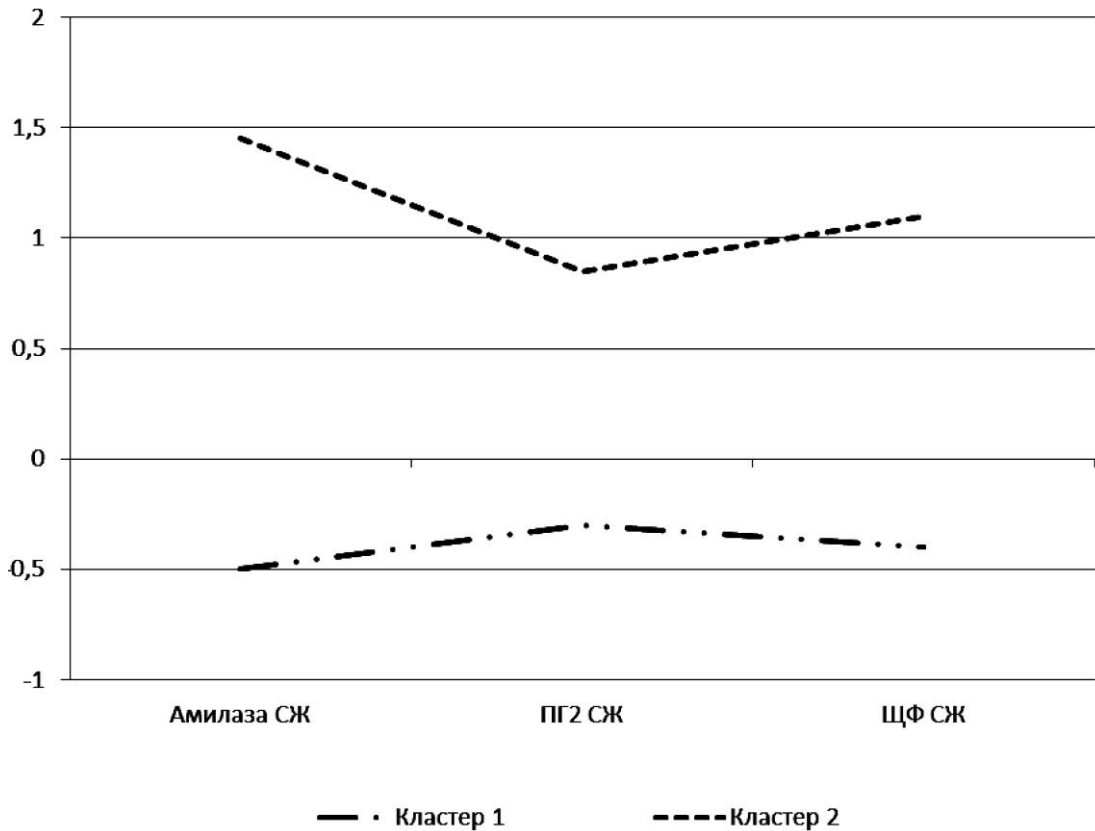
Столь значительные отличия содержания ферментов означают, что доношенные и недоношенные дети не образуют однородную совокупность относительно ферментативной активности, поэтому, целесообразно отдельно исследовать структуру совокупностей доношенных и недоношенных детей для выявления в них кластеров – групп однородности.



**Рисунок 5.5** – Графики средних содержания ферментов в аспирате содержимого желудка доношенных и недоношенных новорожденных

Для доношенных детей методом k-средних кластерного анализа удалось по 3 ферментам – амилазе, щелочной фосфатазе и пепсиногену II выделить 2 кластера, обладающих тем свойством, что внутри каждой их групп наибольшее сходство между новорожденными по уровню содержания этих ферментов, а между кластерами – наибольшие отличия. На графике k-средних (рисунок 5.6) изображены средние значения нормированных (стандартизованных) значений уровней содержания ферментов, при этом видно, что все средние содержания ферментов кластера 2 (группа высокого полиферментного статуса) больше средних значений кластера 1 (группа низкого полиферментного статуса). Большие расстояния между средними значениями свидетельствуют о наличии хорошо выраженной кластерной структуры.

Аналогично для недоношенных детей кластерным анализом по тем же 3 ферментам содержимого желудка удалось выделить 3 кластера. При этом средние значения содержания ферментов кластера 2 больше средних значений кластера 1 и 3, а средние кластера 1 превосходят средние кластера 3. Выделенные кластеры новорожденных названы соответственно группами высокого, среднего и низкого полиферментного дигестивного статуса.



**Рисунок 5.6** – График средних уровня ферментов у доношенных детей

Так как известна принадлежность новорожденных к группам, их совокупность можно считать обучающей выборкой, следовательно, возможно использование методов классификационного анализа с обучением – дискриминантного анализа, деревьев классификации для прогнозирования дигестивного ферментного статуса системы пищеварения новорожденных.

Учитывая технологическую сложность забора (аспирации) проб из желудков новорожденных детей, определенную актуальность приобретает предсказание полиферментного статуса системы пищеварения при помощи более простой манипуляции – по анализам сыворотки крови пуповины. Дискриминантным анализом не удалось построить адекватную модель, поэтому был использован альтернативный метод дерева классификации. По графу дерева легко составить алгоритм классификации, который позволит для любого новорожденного по анализам ферментов сыворотки пуповинной крови установить его ферментный статус.

Методами дискриминантного анализа и деревьями классификации построены математические модели и алгоритмы, позволяющие по уровню содержания ряда ферментов в содержимом желудка и сыворотке пуповинной крови с высокой достоверностью предсказать полиферментный статус системы пищеварения новорожденного.

Несмотря на то, что модели для предсказания группы ферментного статуса достаточно простые в реализации, для автоматизации расчетов было разработано программное приложение (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2018613663) с дружественным к пользователю интерфейсом – от пользователя не требуется знаний в области прикладной статистики, достаточно ввести необходимую информацию в окно программы (рисунок 5.7).

**Выберите нужное**

**Новорожденный**

- доношенный
- недоношенный

**Определение ферментной активности по**

- ферментам среды желудка
- ферментам крови

**Укажите значения ферментов**

Липаза	<input type="text" value="95,6"/>
Амилаза	<input type="text" value="141"/>
Пепсиноген 1	<input type="text" value="19,2"/>
Пепсиноген 2	<input type="text" value="221,3"/>
Щелочная фосфатаза	<input type="text" value="30"/>

**Полиферментный статус низкий**

**Расчет**

**Завершить**

Рисунок 5.7 – Интерфейсное окно программы

Изначально пользователю следует указать доношенный ребенок или недоношенный, далее, по каким ферментам будут проводиться расчеты – ферментам содержимого желудка, или сыворотки крови. Программа, в зависимости от произведенных установок выберет соответствующую модель

и, произведет расчеты. В нижнем левом углу появится сообщение с предсказанным уровнем ферментативной активности системы пищеварения новорожденного. Разработанное приложение построено по выборкам малого объема и поэтому служит для иллюстрации принципиальной возможности построения программ, способных с высокой достоверностью предсказывать ферментный статус системы пищеварения новорожденных. В перспективе такие программы могут быть включены в специализированные медицинские системы поддержки принятия врачебных решений [А.В. Гусев, 2017; А.А. Халафян, 2010] для определения оптимальных тактик ведения новорожденных детей.

### **5.5. Основные итоги комплексного исследования гидролаз системы пищеварения доношенных и недоношенных новорожденных детей**

Созревание продуцентов разных гидролаз системы пищеварения плода происходит гетерохронно. Раньше других созревают железы тонкой кишки. Затем железы, синтезирующие липазу, как функционально значимую (актуальную) в лактотрофии в роли индуктора липолиза и обеспечивающую сам липолиз в пищеварительном тракте грудного ребенка. Таковыми являются лингвальные, слюнные, желудочные и поджелудочная железы.

Слюнные и желудочные железы продуцируют фетальные протеазы. Слюнные важны в продукции индукторов желудочных и поджелудочных фетальных протеаз. Фетальными желудочными протеазами являются иммунно-идентифицируемые пепсиноген II и пепсиноген I новорожденных. Пепсиноген II в желудочном содержимом и околоплодных водах новорожденного ребенка, в отличие от желудочного сока и сыворотки крови здорового человека, содержится в многократно превышающей концентрации по сравнению с пепсиногеном I, который у здоровых взрослых превышает в сыворотке крови содержание пепсиногена II в 2–3 раза [А.М. Запруднов,

А.И. Волкова, К.И. Григорьев, 2007; J. Defize, S. Meuwissen, 1987]. Высокая продукция дуоденальными железами и желудка новорожденного ребенка пепсиногена II, способного с большой скоростью гидролизовать казеин, имеет важное адаптивное значение в лактотрофии грудного ребенка,

Ферментные параметры отличаются большой вариабельностью, поэтому результаты обработаны методами непараметрической статистики. Относительно небольшая выборка не позволяет определить величины, которые можно рекомендовать в качестве нормы или референсного интервала. По нашим данным, число детей с ферментными показателями сыворотки крови, околоплодных вод и содержимого желудка выше и ниже среднего весьма значительно различалось. Это можно рассматривать как аргумент для определения ферментных показателей в группе с нормальным и укороченным сроками гестации. Это тем более важно, если фактический показатель оказался в два или более раз меньше средней величины или медианы.

Это правило не распространяется на липазу трех биожидкостей (сыворотки крови новорожденного, околоплодных вод и содержимого желудка) из-за ее стартовой стабилизации на ранних сроках беременности. Не информативна в характеристике морфофункционального статуса пищеварительных желез и щелочная фосфатаза сыворотки крови из-за ее полиорганного синтеза. В околоплодных водах и содержимом желудка показатели активности щелочной фосфатазы при недоношенной беременности снижены.

В целом же три фермента –  $\alpha$ -амилазу, пепсиногены I и II – следует признать информативными в сыворотке пуповинной крови, околоплодных водах и содержимом желудка новорожденных в оценке стартового ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденных детей. Показательно, что стартовый ферментный дигестивный потенциал значительно снижен при недоношенной беременности.

Ферменты сыворотки крови пуповины имеют высокий информационный интерес при сравнении с таковыми сыворотки крови

родильницы Ферменты околоплодных вод имеют разное происхождение и пути поступления, выступают как интегральный показатель дигестивного ферментного потенциала пищеварительного тракта новорожденного.

Важным, установленным нами механизмом поступления гидролаз в околоплодные воды является оральное выведение в них содержимого полости рта, желудка и тонкой кишки, в том числе ферментов лингвальных, слюнных, желудочных, поджелудочной и дуоденальных желез.

Вышесказанное позволяет заключить, что секреторная активность пищеварительных желез плода и, следовательно, новорожденного мала, и количество ферментов, обеспечивающих их собственное полостное пищеварение, недостаточно для эффективной дигестии. Это и объясняет актуальность участия в ней аутолитического пищеварения посредством ферментов молозива, обладающего высокой ферментативной активностью, и в дальнейшем – ферментов зрелого грудного молока [Г.Ф. Коротько, У.М. Мирзакаримов, 2014; D.C. Dallas, A. Guerrero, N. Khaldi, 2014]. Справедливо утверждается многофакторная, в том числе дигестивная, актуальность естественного вскармливания ребенка и прогноз определения его эффективности, а также возможной коррекции по результатам исследования ферментативной активности полученных в родах сыворотки крови пуповины и околоплодных вод.

Полученные сведения о гидролитических ферментах сыворотки крови пуповины, околоплодных вод и содержимого желудка, их изменениях при неполных сроках гестации, позволяют сделать заключение об их происхождении и диагностической информативности в оценке дигестивного потенциала новорожденного, прогнозировать нутритивные и регуляторные эффекты гидролаз пищеварительных желез и грудного молока и по результатам оценки этого потенциала определить технологию и тактику вскармливания ребенка. Область теоретического внедрения нового знания, практического диагностического применения – биохимия, физиология, перинатология, неонатология, педиатрия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя вышепредставленные результаты исследований можно заключить, что в сыворотке крови пуповины новорожденных с полным и неполным гестационными периодами присутствуют гидролазы и зимогены пищеварительных желез: липаза,  $\alpha$ -амилаза, пепсиногены I и II, содержание которых очень вариабельно, особенно у недоношенных детей. Причинами такой вариабельности являются: асинхронность антенатального формирования различных ферментных систем, мультиорганный генез гидролаз в крови плода и новорожденных детей, несформированность регуляторных механизмов обеспечения ферментного гомеостаза. Содержание гидролаз в сыворотке крови в конце неонатального периода новорожденных детей с нормальными сроками гестации состоит в прямой зависимости от содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины, сформированного при полном сроке гестации. У недоношенных детей такой зависимости нет, то есть у них значительно задержано формирование стартового дигестивного потенциала.

Результаты определения гидролитической активности сыворотки пуповинной крови, доказали две основные закономерности: во-первых, ферментсинтезирующая функция желез пищеварительной системы у плода и новорожденного сформирована еще не полностью. Это общеизвестный факт возрастной физиологии, неонатологии, перинатологии, акушерства и педиатрии. Второе – онтогенез разных ферментных систем плода асинхронен, что является одной из причин большой вариабельности ферментных показателей сыворотки крови пуповины новорожденных. Данный факт мы отнесли к числу установленных нами. Из-за такой вариабельности гидролазы сыворотки крови пуповины вряд ли могут быть отнесены к достаточно надежным диагностическим критериям в характеристике ферментных систем пищеварительного тракта новорожденных по причине недостаточно высокой информативности содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины



новорожденного о его стартовом дигестивном потенциале. Практическая значимость знания его возможностей как одного из параметров и критериев благополучного постнатального развития и успешности лактотрофии определяет необходимость дальнейших поисков методов количественной характеристики дигестивного потенциала новорожденного, прогнозирования функциональной активности его системы пищеварения в лактотрофии и возможных приемов трофологической поддержки.

Следует отметить, что антенатально сформированный дигестивный потенциал весьма вариабелен, различаясь у разных детей с нормальным сроком гестации в период первого постнатального месяца жизни. Такие результаты объясняются существенной ролью в обеспечении определенного уровня содержания гидролаз в крови пуповины не только пищеварительных желез плода, но и плаценты, ферментов материнской крови, а также несформированностью регуляторных механизмов обеспечения относительного постоянства (гомеостаза) содержания гидролаз в системном кровотоке. Теоретическая новизна полученных результатов исследования и практическая их значимость для лактотрофии потребовала проведения анализа зависимости дигестивного неонатального потенциала в конце первого месяца жизни от величины данного потенциала, сформированного в антенатальный период, то есть его величины при рождении. Этим мы сочли возможным характеризовать коэффициентом корреляции ферментных показателей первого дня жизни, определенных у детей при их рождении и на 28 сутки их жизни. Результаты такого корреляционного анализа представлены в главе 3, в таблице 3.5.

Представленные результаты корреляционного анализа позволяют заключить, что содержание в сыворотке венозной крови месячного ребенка, то есть его дигестивный для лактотрофии потенциал, при доношенной гестации состоит в прямой зависимости от такового потенциала при рождении по амилазе, липазе и пепсиногену I, а по пепсиногену II, синтезируемому glanduloцитами слизистой оболочки антродуоденальной зоны, такой

зависимости нет. У недоношенных детей такой зависимости нет по трем гидролазам: амилазе, липазе и пепсиногену II. Такие результаты указывают на диагностическую значимость определения гидролаз сыворотки крови пуповины новорожденного в прогнозировании дигестивного потенциала в последующий месяц жизни ребенка, что актуально в прогнозировании оптимальной или неоптимальной естественной лактотрофии.

Анализ результатов исследований, связанных с определением стартового дигестивного потенциала новорожденных детей по показателям количественной характеристики гидролитических ферментов сыворотки крови пуповины при рождении, предопределил необходимость поиска других критериев. Таким критерием представилось определение гидролитических ферментов аспирата натошачевого желудочного содержимого новорожденных. Ферментативная активность желудочного аспирата обеспечивается гидролазами желудочного секрета; регургитированного дуоденального содержимого, содержащего гидролазы поджелудочного и кишечного секретов; проглоченных ротовой жидкости и околоплодных вод. То есть желудочный аспират новорожденного является полисекреторным продуктом и характеризует секрецию гидролитических ферментов главными пищеварительными железами ребенка.

Во всех исследованных нами натошачевых пробах аспирата желудочного содержимого, полученного в первые и на 7-е сутки после родов отмечен чрезвычайно широкий разброс количественных показателей содержания гидролитических ферментов. Вероятной причиной этого могла быть как индивидуальная асинхронность пре- и постнатального формирования различных ферментных систем плода и новорожденного ребенка, так и различие состояния секреторного и моторного аппаратов детей во время забора материала вследствие проглатывания перед аспирацией желудочного содержимого ротовой жидкости с ее достаточно высокой ферментативной активностью либо амниотической жидкости, снижающая концентрацию

гидролаз путем разведения желудочного содержимого. Не исключено влияние на концентрацию гидролаз в аспирате желудочного содержимого регургитации в желудок содержимого двенадцатиперстной кишки. У доношенных детей в среднем содержание в аспирате пепсиногена I было выше, чем у недоношенных. По содержанию в аспирате пепсиногена II наблюдалась обратная тенденция – после родов показатели концентрации зимогена были в среднем выше, чем на 7-е сутки. У всех недоношенных детей на 7-ой день жизни содержание в желудочном аспирате пепсиногенов I и II было выше, чем в первый день после родов. Это свидетельствует о нарастании уже в первую неделю жизни ферментсинтезирующей деятельности фундальных, антральных и дуоденальных желез, продуцирующих эти зимогены. Данный процесс может иметь компенсаторное и адаптационное значение, так как не наблюдался по пепсиногену II у доношенных, но четко прослеживался у детей с неполным сроком гестации.

У большинства недоношенных детей на 7-е сутки в аспирате желудочного содержимого было выше содержание липазы и амилазы, чего не наблюдалось у детей с полным сроком гестации по амилазе, но было у большинства детей по липазе. Нарастание ферментативных активностей аспирата желудочного содержимого могло индуцироваться началом молочного вскармливания ребенка. Однако, такая индукция наблюдалась лишь у недоношенных детей и ее не было у детей доношенных. Поэтому можно допустить, что у недоношенных детей в первую неделю после родов продолжается генетически запрограммированный процесс нарастания стартового дигестивного потенциала до величин, которые он должен иметь при нормальном сроке гестации, и он, действительно, приближается к таковому.

Поскольку ферменты пищеварительных желез не только экзосекретируются в составе секретов в полость пищеварительного тракта, но и эндосекретируются в лимфу, венозный кровоток, переносятся и в системный кровоток, откуда поступают, в различные биологические жидкости. Такой

специфической жидкостью беременной женщины являются околоплодные воды, в которых также содержатся и гидролазы. В последние сроки гестации основным их продуцентом являются пищеварительные железы плода. Поэтому концентрация гидролаз в околоплодных водах является, как и кровь плода и новорожденного ребенка, показателем их морфофункциональной зрелости, прежде всего, секреторного потенциала пищеварительных желез.

Мы зафиксировали присутствие в околоплодных водах обследуемых рожениц основных гидролитических ферментов пищеварительных желез. Нами впервые обнаружены в околоплодных водах две изоформы пепсиногена – пепсиноген I и пепсиноген II, которые часто определяются в сыворотке крови человека с диагностической целью и характеризуют синтез и секрецию фундальных (пепсиноген I) и антродуоденальных (пепсиноген II) желез желудка. Такое же информационное значение могут иметь пепсиногены околоплодных вод в отношении желез новорожденного.

Содержание в околоплодных водах пепсиногена II почти в 20 раз больше, чем пепсиногена I. Это косвенно свидетельствует, что пепсиноген II является фетальным пепсиногеном, адаптированным к гидролизу казеина [А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук, 2003; А.М. Запруднов, К.И. Григорьев, Л.А. Харитонова, Л.В. Богомаз, 2013; P. Ferranti, M.V. Traisci, G. Picariello et al., 2004]. При недоношенной беременности околоплодные воды содержат все гидролазы, за исключением липазы, в меньшей концентрации, чем при доношенной гестации. По щелочной фосфатазе эти различия в среднем пятикратные, по другим гидролазам почти двух-трех кратные. По всем гидролазам выявленные различия ферментативной активности статистически высоко значимы ( $p < 0,01$ ). Амилолитическая активность околоплодных вод, в 2–3 раза превышает таковую сыворотки крови родильницы и почти в 20 раз – сыворотки пуповинной крови доношенного новорожденного ребенка. Это объясняется включением в состав околоплодных вод не только и не столько инкретированной пищеварительными железами амилазы и уроамилазы, но и

амилазы ротовой жидкости, а также рефлюксированного содержимого желудочно-кишечного тракта новорожденного. Этот компонент механизма формирования ферментного состава околоплодных вод нами установлен впервые. Представленные факты являются аргументом в пользу в основном фетального происхождения гидролаз, прежде всего – пепсиногенов, в околоплодных водах.

В связи с тем, что присутствие гидролаз в околоплодных водах обеспечивается, по утверждению ряда исследователей, и пищеварительными железами беременной [П.И. Цапок, В.Н. Дроздов, 1986], еще одной биожидкостью, исследованной на содержание гидролаз, была сыворотка венозной крови роженицы, взятой у женщины из кубитальной вены в конце родов.

Доказано, что содержание гидролаз пищеварительных желез в сыворотке и плазме крови в первую очередь обеспечивается ферментным потенциалом желез-продуцентов соответствующих ферментов, то есть числом и активностью синтезирующих их glanduloцитов [М.Г. Закс, В.Н. Никитин, 1975]. Фактические ферментные показатели родильниц должны соответствовать рекомендованному как норма диапазону содержания соответствующего фермента в сыворотке крови. Полученные нами величины соответствовали указанным величинам у родильниц по двум пепсиногенам и другим ферментам. Родившие доношенных и недоношенных детей родильницы не различались в содержании ферментов в сыворотке крови. Исключение составила только щелочная фосфатаза, имеющая полиорганное происхождение. Диагностически важным и ценным представляется определение содержания и соотношения содержания гидролаз в сыворотке крови родильницы (при условии нормальных показателей ферментов в сыворотке или плазме крови) – и сыворотке крови пуповины новорожденного.

Как свидетельствуют полученные нами результаты, в сыворотке крови родильниц содержание всех гидролаз существенно выше, чем в сыворотке

крови пуповины. Это отражает неполную сформированность ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденных детей. Для разных гидролаз стартовый уровень различен, что свидетельствует об асинхронности морфофункционального созревания ферментных систем пищеварительного тракта плода и новорожденного. Так, особенно отстают в развитии продуценты пепсиногенов – железы желудка (это более выражено в отношении пепсиногена I, продуцируемого фундальными железами – шестикратное различие) и продуцентов  $\alpha$ -амилазы – слюнных и поджелудочной желез, имевших при нормальной гестации семикратное различие. Содержание липазы, синтезируемой слюнными, желудочными и поджелудочной железами, в сыворотке крови пуповины примерно в три раза ниже, чем в сыворотке крови родильниц при доношенной и недоношенной беременности. При недоношенной беременности наблюдается резкое снижение содержания в сыворотке крови пуповины амилазы и пепсиногена I, их соотношения с таковыми в крови родильниц возросли до одиннадцатикратного различия. Анализ процентных показатели содержания ферментов в сыворотке крови пуповины новорожденного по отношению к таковым сыворотки венозной крови родильницы по амилазе и липазе свидетельствует о наиболее позднем формировании амилитической системы пищеварительных желез и существенном его отставании при недоношенной гестации.

Пепсиноген I, являющийся предшественником активной протеазы при низких значениях рН не актуален в ранние сроки лактотрофии и его содержание в крови у доношенного ребенка составляет в 6 раз ниже в сыворотке материнской крови. При недоношенности наличие (т.е. синтез) этого фермента в 10 раз ниже такового у матери. Содержание пепсиногена II в пуповинной крови относительно высокое при доношенной беременности и составляет примерно треть такового в сыворотке крови матери, а при недоношенности существенно ниже. Такие показатели отражают стартовый уровень

адаптированности синтеза и секреции данной протеиназы к гидролизу казеина в лактотрофии новорожденных, адаптированность к ней секреции желудочных желез. При неполном сроке гестации резко снижается и без того еще несформированный потенциал фундо-антро-дуоденальных продуцентов пепсиногенов. В связи с актуальностью гастрального эндопротеолиза казеина молока на ранних этапах лактотрофии снижение пептического потенциала желудка может отразиться на метаболизме протеинов недоношенных детей с пониженным пептическим потенциалом секреции желудка. То есть, снижение секреции пепсиногенов железами желудка новорожденных чревато мальдигестией казеина молока, так как пепсины как эндопептидазы предваряют последующий гидролиз образованных дипептидов и олигопептидов тонкокишечными пептидазами по типу пристеночного пищеварения. Следовательно, очевидным преимуществом в оценке ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденного является определение амилазы, липазы, пепсиногенов I и II в сыворотке крови пуповины новорожденного и сыворотке крови его родильницы с вычислением их отношения. Этот прием представляется нам практически значимым.

Проведенное исследование содержания одних и тех же гидролитических ферментов в различных четырех биологических жидкостях позволило сравнительно характеризовать их информационные возможности в количественном определении дигестивного ферментного потенциала новорожденного, сформированного в фетальный период индивидуального развития ребенка, и кроме того, расширить существующие знания о происхождении гидролаз разных пищеварительных желез в разных биожидкостях.

Вышесказанное позволяет заключить, что секреторная активность пищеварительных желез плода и, следовательно, новорожденного мала, и количество ферментов, обеспечивающих их собственное полостное пищеварение, недостаточно для эффективной дигестии. Это объясняет

актуальность участия в ней аутолитического пищеварения [Г.Ф. Коротько, 2014; У.М. Мирзакаримов, 1974; D.C. Dallas, A. Guerrero, N. Khaldi, 2014]. Справедливо утверждается многофакторная, в том числе дигестивная, актуальность естественного вскармливания ребенка и прогноз определения его эффективности, а также возможной коррекции по результатам исследования ферментативной активности полученных в родах сыворотки крови пуповины и околоплодных вод.

Полученные сведения о гидролитических ферментах сыворотки крови пуповины, околоплодных вод и содержимого желудка, их изменениях при неполных сроках гестации, позволяют сделать заключение об их происхождении и диагностической информативности в оценке дигестивного потенциала новорожденного, прогнозировать нутритивные эффекты гидролаз пищеварительных желез и по результатам оценки этого потенциала определить тактику вскармливания ребенка. Область теоретического и практического применения нового знания, – биохимия, физиология, перинатология, неонатология, педиатрия.



## ВЫВОДЫ

1. Представления о достаточной готовности (или неготовности) организма новорожденного для адекватной лактотрофии базируются на оценке биохимических характеристик полиферментного стартового дигестивного потенциала и функциональной зрелости его системы пищеварения, который начально формируется в антенатальный период развития плода и в постнатальный период с первого дня рождения и включает гидролитические ферменты экзосекретируемые пищеварительными железами ребенка, а также ферменты самого грудного молока.

2. Сыворотка крови пуповины новорожденных с полным и неполным гестационными периодами содержит гидролазы и зимогены пищеварительных желез: липазу,  $\alpha$ -амилазу, пепсиногены I и II. Содержание гидролаз и пепсиногенов в сыворотке крови пуповины чрезвычайно variabelно, особенно у недоношенных детей. Причинами такой variability являются: асинхронность антенатального формирования различных ферментных систем, мультиорганный генез гидролаз в крови плода и новорожденных детей, несформированность регуляторных механизмов обеспечения ферментного гомеостаза.

3. При недоношенной беременности околоплодные воды содержат все гидролазы, за исключением липазы, в меньшей концентрации, чем при доношенной гестации. По щелочной фосфатазе эти различия в среднем пятикратные, по другим гидролазам почти двух-трех кратные. По всем гидролазам различия в содержании исследованных ферментов статистически высоко значимы ( $p < 0,01$ ). Механизм поступления гидролаз в околоплодные воды включает оральное выведение в них содержимого полости рта, желудка и тонкой кишки, в том числе ферментов лингвальных, слюнных, желудочных, поджелудочной и дуоденальных желез. Ферменты околоплодных вод выступают как интегральный показатель дигестивного ферментного потенциала пищеварительного тракта новорожденного.

4. Дигестивный потенциал для лактотрофии месячного ребенка при доношенной гестации состоит в прямой коррелятивной зависимости от такового потенциала при рождении по амилазе, липазе и пепсиногену I, а по пепсиногену II, синтезируемому glanduloцитами слизистой оболочки антродуоденальной зоны, такой зависимости нет. У недоношенных детей такой коррелятивной зависимости нет по трем гидролазам: амилазе, липазе и пепсиногену II.

5. Содержание гидролаз в сыворотке крови в конце неонатального периода новорожденных детей с нормальными сроками гестации состоит в прямой зависимости от содержания гидролаз в сыворотке крови пуповины, сформированного при полном сроке гестации. У недоношенных детей такой зависимости нет, то есть у них значительно задержано формирование стартового дигестивного потенциала. Содержание  $\alpha$ -амилазы, пепсиногена I и пепсиногена II в содержимом желудка детей, сыворотке пуповинной крови и околоплодных водах являются информативными критериями оценки стартового ферментного потенциала пищеварительных желез новорожденных. Стартовый ферментный дигестивный потенциал значительно снижен при недоношенной беременности.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки функциональной зрелости системы пищеварения новорожденных и их стартового полиферментного дигестивного потенциала наиболее информативно исследование содержания  $\alpha$ -амилазы, пепсиногена I и пепсиногена II в содержимом желудка детей, сыворотке пуповинной крови и околоплодных водах.

2. Готовность новорожденного к эффективному гидролизу питательных веществ поступающих в его организм целесообразно оценивать по результатам комплексного биохимического исследования энзиматической активности амниотической жидкости, аспирата желудочного содержимого и пуповинной крови новорожденного. Данная рекомендация основана на результатах разностороннего изучения биохимических характеристик различных компонентов ферментативных механизмов процесса пищеварения на самых ранних его этапах (патент на изобретение № 2627432).

3. Определение биохимических характеристик стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденных следует проводить в соответствии с алгоритмом, изложенным в методических рекомендациях, утвержденных ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (Краснодар, 2018).

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**ВИП** – вазоактивный интестинальный пептид

**ГИП** – гастрин ингибирующий пептид

**ГМ** – грудное молоко

**ДНК** – дезоксирибонуклеиновая кислота

**ЖС** – желудочное содержимое

**КП** – кровь пуповины

**МЖГМ** – мембрана жировых глобул молока

**МСР-1** – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1

**ОВ** – околоплодные воды

**ПГ** – пепсиноген

**ПНЖК** – полиненасыщенные жирные кислоты

**РНК** – рибонуклеиновая кислота

**СКР** – сыворотка крови родильницы

**ТГЦ** – триглицериды

**ФСЛ** – фосфолипиды

**ЩФ** – щелочная фосфатаза

**BSSL** – липаза, стимулированная желчной солью

**EFSA** – Европейское агентство по безопасности продуктов питания

**EV** – внеклеточные везикулы

**GRO** – онкоген с регулируемым ростом

**IgA** – иммуноглобулин А

**IgB** – иммуноглобулин В

**MDC (Macrophage-Derived Chemokine)** – хемокин, получаемый из макрофагов

**MIP-1 $\beta$**  – воспалительный белок макрофага-1 бета

**Rкан** – коэффициент канонической корреляции

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдуллаев, Ф.А. Модифицированный метод определения липолитической активности пищеварительных соков / Ф.А. Абдуллаев // Материалы Второй республиканской конференции по клинической биохимии. – Ташкент, 1965. – С. 45–48.
2. Аболенская, А.В. Система пищеварения здоровых детей / А.В. Аболенская. – Горький : Волго-Вят. кн. изд., 1981. – 143 с.
3. Авдеева, Т.Г. Детская гастроэнтерология: Руководство / Т.Г. Авдеева, Ю.В. Рябухин, Л.П. Парменова, Н.Ю. Крутикова. – М. : «ГЭОТАР Медиа», 2009. – 192 с.
4. Агаджанян, Н.Н. Нормальная физиология. Учебник для студентов мед. вузов / Н.Н. Агаджанян, В.М. Смирнов. – М. : МИА, 2009. – 520 с.
5. Адамкин, Дэвид Х. Стратегия питания младенцев с очень низкой массой тела при рождении / Пер. с англ., под ред. Е.Н. Байбариной. – М. : «ГЭОТАР-Медиа», 2013. – 776 с.
6. Аршавский, И.А. О смене типов питания и пищеварения в онтогенезе / И.А. Аршавский, М.П. Немец // Успехи физиологических наук. – 1996. – Т. 27. – № 1. – С. 109–129.
7. Аршавский, И.А. Очерки по возрастной физиологии / И.А. Аршавский. – М. : Медицина, 1967. – С. 88–96, 246–287.
8. Баранов, А.И. Детская гастроэнтерология / А.И. Баранов, Г.В. Климанская, Г.В. Римарчук. – М. : РАМН, 2003. – 1029 с.
9. Бельмер, С.В. Пищевое поведение и пищевое программирование у детей / С.В. Бельмер, А.И. Хавкин, В.П. Новикова. – СПб. : «Медпрактика-М», 2015. – 296 с.
10. Брокерхоф, Х. Липолитические ферменты (пер. с англ.) / Х. Брокерхоф, Р. Дженесен. – М. : Мир, 1978. – 396 с.
11. Володин, Н.Н. Неонатология. Национальное руководство / под ред. Н.Н. Володина. – М. : «ГЭОТАР-Медиа», 2007. – 848 с.

12. Грачев, И.И. Физиология лактации, общая и сравнительная. Руководство по физиологии / И.И. Грачев, В.П. Галанцев. – Л. : Наука, 1973. – 590 с.

13. Данилов, Р.К. Руководство по гистологии в 2-х томах. Т. 2 / Р.К. Данилов. – СПб. : СпецЛит, 2011. – 719 с.

14. Дегтярев, В.П. Амилолитическая активность молока / В.П. Дегтярев, Т.В. Дегтярева // Тезисы докл. I конф. биохим. Ср. Азии Казахстана. – Ташкент, 1966. – С. 128.

15. Диплом на открытие № 499. Закономерность формирования у новорожденных детей дигестивного стартового потенциала / Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько // РАЕН, Международная академия авторов научных открытий и изобретений, Международная ассоциация авторов научных открытий. Регистрационный № 648.

16. Закс, М.Г. Онтогенез пищеварительной функции. Возрастная физиология. Руководство по физиологии / М.Г. Закс, В.Н. Никитин. – Л. : Наука, 1975. – С. 263–312.

17. Запруднов, А.М. Проблемы и перспективы современной детской гастроэнтерологии / А.М. Запруднов, К.И. Григорьев, Л.А. Харитонова, Л.В. Богомаз, Т.М. Юдина // Педиатрия. – 2016. – Т. 95. – № 6. – С. 10–18.

18. Запруднов, А.М. Современные аспекты профилактики заболеваний органов пищеварения у детей / А.М. Запруднов, К.И. Григорьев, Л.А. Харитонова, Л.В. Богомаз // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 1. – С. 3–14.

19. Запруднов, А.М. Справочник по детской гастроэнтерологии / А.М. Запруднов, А.И. Волкова, К.И. Григорьев. – М. : «ГЭОТАР-Медиа», 2007. – 848 с.

20. Захарова, И.Н. Мембрана жировых глобул молока: инновационные открытия уже сегодня / И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева, Е.А. Гордеева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – № 60(6). – С. 15–21.

21. Клиорин, А.И. Некоторые возрастные особенности функций желудочно-кишечного тракта у детей. Справочник по детской диететике / под ред. И.М. Воронцова, А.В. Мазурина. – Л. : Медицина, 1977. – С. 5–11.

22. Колесов, С.А. Особенности протеома и пептидома слюны человека / С.А. Колесов, Э.Н. Федулова, А.Е. Лаврова // Физиология человека. – 2016. – № 42(4). – С. 130–136.

23. Колодкина, Е.В. Гомеостаз инкретируемых ферментов у женщин при беременности и в период грудного вскармливания / Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин. – Киров : Кировская ГМА, 2008. – 156 с.

24. Колодкина, Е.В. Ферментный гомеостаз у женщин при беременности в зависимости от срока и вида родоразрешения / Е.В. Колодкина, Н.Ф. Камакин. – Киров : Кировская ГМА, 2008. – 111 с.

25. Комарова, О.Н. Мембрана жировых глобул молока: технология будущего уже сегодня [Электронный ресурс] / О.Н. Комарова, А.И. Хавкин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – № 2. – С. 35–40.

26. Конь, И.Я. Основы естественного вскармливания детей первого года жизни. Детское питание. Руководство для врачей. Ч. 2 / И.Я. Конь, М.В. Гмошинская, Е.М. Фатеева. – М. : Медицинское информационное агентство, 2009. – С. 277–339.

27. Корниенко, Е.А. Заболевания органов пищеварения. Детские болезни. 7-е изд., перераб. и доп. [В 2-х т.]. Т. 1. / под ред. Н.П. Шабалова. – СПб. : Питер, 2012. – С. 627–839.

28. Коротько, Г.Ф. Гидролазы грудного молока в лактотрофии ребенка / Г.Ф. Коротько // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2018. – № 2. – С. 3–12.

29. Коротько, Г.Ф. Желудочное пищеварение / Г.Ф. Коротько. – Краснодар : Изд. ООО БК «Группа Б». – 2007. – 256 с.

30. Коротько, Г.Ф. Лактотрофия младенцев в ракурсе дигестиологии / Г.Ф. Коротько // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – № 161(1). – С. 4–54.

31. Коротько, Г.Ф. О гидролазах грудного молока / Г.Ф. Коротько, У.М. Мирзакаримов // Вестник интенсивной терапии. – 2014. – № 5. – С. 75–80.
32. Коротько, Г.Ф. Пищеварение – естественная технология / Г.Ф. Коротько. – Краснодар : Эдви, 2010. – 304 с.
33. Коротько, Г.Ф. Протеолиз в регуляции функций системы пищеварения / Г.Ф. Коротько // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 10. – С. 23–27.
34. Коротько, Г.Ф. Рециркуляция ферментов пищеварительных желез / Г.Ф. Коротько. – Краснодар : Изд-во «ЭДВИ», 2011. – 144 с.
35. Коротько, Г.Ф. Секреция ферментов поджелудочной железой / Г.Ф. Коротько // Современная медицинская наука. – 2013. – № 3. – С. 6–22.
36. Коротько, Г.Ф. Система пищеварения и типы питания в онтогенезе / Г.Ф. Коротько. – Краснодар : «Традиция», 2014. – 176 с.
37. Коротько, Г.Ф. Типы пищеварения при грудном вскармливании детей: возвращение к проблеме / Г.Ф. Коротько // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85. – № 1. – С. 19–28.
38. Коротько, Г.Ф. Физиология системы пищеварения / Г.Ф. Коротько. – Краснодар : Изд. ООО БК «Группа Б», 2009. – 608 с.
39. Крстич, Р.В. Атлас микроскопической анатомии человека / Р.В. Крстич. – М. : Оникс, 2010. – 608 с.
40. Лелевич, С.В. Клинико-лабораторные особенности периода беременности. Учебно-методическое пособие для студентов лечебного, педиатрического факультетов и врачей / С.В. Лелевич. – Республика Беларусь : Гродно ГрГМУ, 2010. – 52 с.
41. Мельник, Е.В. Биохимические параметры околоплодных вод при дистрессе плода в родах / Е.В. Мельник, О.Л. Малолеткина, Е.В. Шилкина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № 5. – С. 33–40.
42. Милованов, А.М. Патология системы мать-плацента-плод. Руководство для врачей / А.М. Милованов. – М. : Медицина, 1999. – 448 с.



43. Мирзакаримов, У.М. Гидролитические ферменты женского молока в течение всего лактационного периода и их возможная роль в аутолитическом пищеварении у новорожденных детей : автореф. дисс. ... канд. мед. наук / У.М. Мирзакаримов. – М., 1974. – 30 с.

44. Пенжоян, Г.А. Гидролазы амниотической жидкости в комплексной характеристике новорожденных / Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько, В.А. Хорольский // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 1. – С. 66–70.

45. Пенжоян, Г.А. Комплексная оценка дигестивного ферментного потенциала новорожденного / Г.А. Пенжоян, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 137(1). – С. 3–7.

46. Покровский, В.М. Физиология человека. 3-е издание в 2-х томах, учебник / В.М. Покровский, Г.Ф. Коротько. – М. : Медицина, 2003. – 656 с.

47. Положенкова, Л.А. Активность ферментов поджелудочной железы в сыворотке крови в течение беременности / Л.А. Положенкова, М.М. Шехтман, П.Б. Верховенская // Акушерство и гинекология. – 1987. – № 11. – С. 56–57.

48. Радзинский, В.Е. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности / под ред. В.Е. Радзинского, А.П. Миланова. – М. : МИА, 2004. – С. 274.

49. Рахимов, К.Р. Механизмы усвоения лактозы в онтогенезе человека и животных / К.Р. Рахимов. – Ташкент : Изд. «ФАН» АН УзССР, 1991. – 136 с.

50. Савченков, Ю.И. Плодо-материнские отношения / Ю.И. Савченков, С.Н. Шилов. – Красноярск : Союз, 2001. – 416 с.

51. Серов, В.Н. Практическое акушерство. Руководство для врачей / В.Н. Серов, С.А. Стрижаков, С.А. Маркин. – М. : Медицина, 1989. – 512 с.

52. Скидан, И.Н. Жировые глобулы как детерминанты пищевой и биологической ценности козьего молока / И.Н. Скидан, А.Е. Гуляев, К.С. Казначеев // Вопросы питания. – 2015. – № 84(2). – С. 81–95.

53. Скидан, И.Н. Молочный жир и его функциональная роль в детском питании / И.Н. Скидан, С.В. Бельмер // Вопросы детской диетологии. – 2018. – № 16(4). – С. 28–41.

54. Тутелян, В.А. Детское питание. Руководство для врачей / В.А. Тутелян, И.Я. Конь. – М. : ООО Медицинское информагентство, 2009. – 952 с.

55. Тутченко, Л.И. Еще раз о феномене грудного вскармливания / Л.И. Тутченко // Здоровье Украины. – 2013. – № 2(25). – С. 14–16.

56. Уголев, А.М. Адаптация пищеварительной системы. Физиология адаптационных процессов: рук. по физиологии / А.М. Уголев, Н.М. Тимофеева, А.А. Груздков. – М. : Наука, 1986. – С. 371–480.

57. Уголев, А.М. Естественные технологии биологических систем / А.М. Уголев. – Л. : Наука, 1987. – 317 с.

58. Уголев, А.М. Индуцированный аутолиз как важный механизм начальных стадий пищеварения в естественных условиях / А.М. Уголев, В.А. Цветкова // Физиол. журн. СССР. – 1984. – Т. 70. – С. 1542–1550.

59. Уголев, А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция / А.М. Уголев. – М. : Высшая школа, 1961. – 306 с.

60. Уголев, А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма / А.М. Уголев. – Л. : Наука, 1985. – 544 с.

61. Хавкин, А.И. Гастроэнтерология детского возраста / А.И. Хавкин. – М. : ИД Медпрактика, 2003. – 300 с.

62. Халафян, А.А. Statistica 6. Математическая статистика с элементами теории вероятности: учебник / А.А. Халафян. – М. : Бином, 2010. – 496 с.

63. Харьковская, Р.М. Кислотность желудочного сока и активность пепсина у детей первого года жизни при различных видах пищи / Р.М. Харьковская // Вопросы питания. – 1969. – Т. 28. – № 1. – С. 43–49.

64. Харькова, Р.М. Особенности функции пищеварения у детей первого года жизни при различном вскармливании / Р.М. Харькова // Вопросы питания и воспитания детей. – 1968. – С. 17–27.

65. Цапок, П.И. Околоплодные воды в системе «Мать-плацента-плод» / П.И. Цапок, В.Н. Дроздов. – Кемерово : Кн. изд-во, 1986. – 103 с.

66. Шабалов, Н.П. Неонатология. 4-е изд. [В 2-х т.] / под ред. Н.П. Шабалова. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 344 с.

67. Ширина, Л.И. Система пищеварения ребенка, ее созревание. Детское питание. Руководство для врачей / под ред. В.А. Тутеляна, И.Я. Конь. – М. : ООО Медицинское информагентство, 2009. – С. 25–50.

68. Шубникова, Е.А. Секретция желез. Очерки. Традиционные и нетрадиционные аспекты / Е.А. Шубникова, Г.Ф. Коротько. – М. : Изд. МГУ, 1986. – 129 с.

69. Admyre, C. Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk / C. Admyre, S.M. Johansson, K.R. Qazi // J. Immunol. – 2007. – № 179. – P. 1969–1978.

70. Albrecht, T.W. Milk Lipase / T.W. Albrecht, H.O. Iaynes // J. Dairy Sci. – 1955. – V. 38. – № 2. – P. 137–146.

71. Alsaweed, M. MicroRNAs in breast milk and the lactating breast: potential immunoprotectors and developmental regulators for the infant and the mother / M. Alsaweed, P.E. Hartmann, D.T. Geddes, F. Kakulas // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2015. – № 12(11). – P. 13981–14020.

72. Andreas, N.J. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity / N.J. Andreas, B. Kampmann, K. Mehring Le-Doare // Early Hum. – 2015. – № 91. – P. 629–635.

73. Armand, M. Effect of human milk or formula on gastric function and fat digestion in the premature infant / M. Armand, M. Hamosh, N.R. Mehta [et al.] // Pediatr. Res. – 1996. – № 40(3). – P. 429–437.

74. Ballard, O. Human milk composition: nutrients and bioactive factors / O. Ballard, A.L. Morrow // Pediatr. Clin. North. Am. – 2013. – № 60(1). – P. 49–74.

75. Basch, J.J. Identification of the milk fat globule membrane proteins. II. Isolation of major proteins from electrophoretic gels and comparison of their amino acid compositions / J.J. Basch, R. Greenberg, H.M. Farrell // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1985. – № 830(2). – P. 127–35.

76. Beall, M.H. Regulation of amniotic fluid volume / M.H. Beall, J.P. van den Wijngaard, M.J. van Gemert, M.G. Ross // *Placenta.* – 2007. – № 28(8–9). – P. 824–832.

77. Binaghi, M.J. Estimation of potentially available protein in infant starting formulas for term and preterm neonates / M.J. Binaghi, A. Baroni, C. Greco [et al.] // *Arch. Latinoam. Nutr.* – 2002. – № 52(1). – P. 43–47.

78. Bitman, J. Comparison of the phospholipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants during lactation / J. Bitman, D.L. Wood, N.R. Mehta // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1984. – № 40(5). – P. 1103–1119.

79. Blakelock, R. Is a normally functioning gastrointestinal tract necessary for normal growth in late gestation? / R. Blakelock, V. Upadhyay, R. Kimble, P. Pease [et al.] // *Pediatr. Surg. Int.* – 1998. – № 13(1). – P. 17–20.

80. Bodmer, M.W. Molecular cloning of a human gastric lipase and expression of the enzyme in yeast / M.W. Bodmer, S. Angal, G.T. Yarranton [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1987. – № 909. – P. 237–244.

81. Brace, R.A. Regulation of amniotic fluid volume: intramembranous solute and volume fluxes in late gestation fetal sheep / R.A. Brace, M.L. Vermin, E. Huijsson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – № 191(3). – P. 837–846.

82. Briere, C.E. Breast Milk Stem Cells: Current Science and Implications for Preterm Infants / C.E. Briere, J.M. McGrath, T. Jensen, A. Matson, C. Finck // *Adv. Neonatal. Care.* – 2016. – № 16(6). – P. 410–419

83. Capuco, A.V. Minireview. The origin and evolution of lactation / A.V. Capuco, R.M. Akers // *Journal of Biology.* – 2009. – № 8. – P. 37.

84. Carrière, F. Secretion and contribution to lipolysis of gastric and pancreatic lipases during a test meal in humans / F. Carrière, J.A. Barrowman, R. Verger [et al.] // *Gastroenterology.* – 1993. – № 105. – P. 876–888.

85. Cavaletto, M. The proteomic approach to analysis of human milk fat globule membrane / M. Cavaletto, M.G. Giuffrida, A. Conti // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. – 2004. – № 347(1–2). – P. 41–48.

86. Chandan, K.C. Purification and characterization of milk lipase / K.C. Chandan, K.M. Shahani // *J. Dairy Sci.* – 1963. – V. 46. – № 4. – P. 275–283.

87. Cho, C.K. Proteomics analysis of human amniotic fluid / C.K. Cho, S.J. Shan, E.J. Winsor, E.P. Diamandis // *Mol. Cell Proteomics*. – 2007. – № 6(8). – P. 1406–1415.

88. Contarini, G. Phospholipids in milk fat: composition, biological and technological significance, and analytical strategies / G. Contarini, M. Povoletto // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 29. – № 14(2). – P. 2808–2831.

89. Corpeleijn, W.E. How Proteins Improve the Development of Preterm Infants / W.E. Corpeleijn, C.N. van den Akker, J.A. Roelants, J.B. Van Goudoever // *Impact on Short – and Term Health. Nestle Nutr Inst Workshop Ser Pediatr Program*. – 2011. – № 68. – P. 33–48.

90. Dallas, D.C. A peptidomic analysis of human milk digestion in the infant stomach reveals protein-specific degradation patterns / D.C. Dallas, A. Guerrero, N. Khaldi // *J. Nutr.* – 2014. – № 144(6). – P. 815–820.

91. Dallas, D.C. Digestion of protein in premature and term infants / D.C. Dallas // *Journal of Nutritional Disorders and Therapy*. – 2012. – № 2(3). – P. 112–121.

92. Dallas, D.C. Digestion of protein premature and term infants / D.C. Dallas, M.A. Underwood, A.M. Zivkovic, J.B. German // *J. Nutr. Disord. Ther.* – 2012. – № 2(3). – P. 112–121.

93. Dallas, D.C. Endogenous human milk peptide release is greater after preterm birth than term birth / D.C. Dallas, C.J. Smink, R.C. Robinson, T. Tian [et al.] // *J. Nutr.* – 2015. – № 145(3). – P. 425–433.

94. Dallas, D.C. Enzymes in human milk / D.C. Dallas, J. German // *Nestle Nutr. Inst. Workshop Ser.* – 2017. – № 88. – P. 129–136.

95. Dallas, D.C. N-Linked glycan profiling of mature human milk by high-performance microfluidic chip liquid chromatography time-offlight tandem mass spectrometry / D.C. Dallas, W.F. Martin, J.S. Strum [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2011. – № 59(8). – P. 4255–4263.

96. Dallas, D.C. Proteolytic systems in milk: perspectives on the evolutionary function within the mammary gland and the infant / D.C. Dallas, N.M. Murray, J. Gan // *J. Mammary Gland Biol Neoplasia.* – 2015. – № 20(3-4). – P. 133–147.

97. Dallas, D.S. Extensive in vivo human milk peptidomics reveals specific proteolysis yielding protective antimicrobial peptides / D.S. Dallas, A. Guerrero, N. Khaldi [et al.] // *J. Proteome Res.* – 2013. – № 12(5). – P. 2295–2304.

98. de Oliveira, S.C. Impact of human milk pasteurization on gastric digestion in preterm infants a randomized controlled trial / S.C. de Oliveira, A. Bellanger, O. Ménard [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2017. – № 105(2). – P. 379–390.

99. de Oliveira, S.C. Impact of pasteurization of human milk on preterm newborn in vitro digestion: Gastrointestinal disintegration, lipolysis and proteolysis / S.C. de Oliveira, C. Bourlieu, O. Ménard, A. Bellanger [et al.] // *Food Chem.* – 2016. – Vol. 15. – № 211. – P. 171–179.

100. Defize, J. Pepsinogens: An update of biochemical, physiological, and clinical aspects / J. Defize, S. Meuwissen // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1987. – № 6(4). – P. 493–508.

101. Delplanque, B. Lipid quality in infant nutrition: current knowledge and future opportunities / B. Delplanque, R. Gibson, B. Koletzko, A. Lapillonne, B. Strandvik // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2015. – № 61(1). – P. 8–17.

102. Demers-Mathieu, V. Analysis of milk from mothers who delivered prematurely reveals few changes in proteases and protease inhibitors across gestational age at birth and infant postnatal age / V. Demers-Mathieu, S.D. Nielsen, M.A. Underwood [et al.] // *J. Nutr.* – 2017. – № 147(6). – P. 1152–1159.

103. Demmelmair, H. Lipids in human milk / H. Demmelmair, B. Koletzko // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* – 2018. – № 32(1). – P. 57–68.

104. Dewitt, O. Breast-milk amylase activity in English and Gambian mothers: Effects of prolonged lactation, maternal parity, and individual variations / O. Dewitt, B. Dibba, A. Prentice // *Pediatr Res.* – 1990. – № 28. – P. 502–506.

105. Dvorak, B. Concentrations of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha in preterm milk / B. Dvorak, C.C. Fituch, C.S. Williams, N.M. Hurst, R.J. Schanler // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2004. – № 554. – P. 407–409.

106. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). Scientific Opinion on the essential composition of infant and follow-on formulae // *EFSA Journal.* – 2014. – № 12(7). – P. 3760.

107. Enjapoori, A.K. In vivo endogenous proteolysis yielding beta-casein derived bioactive beta-casomorphin peptides in human breast milk for infant nutrition / A.K. Enjapoori, S. Kukuljan, K.M. Dwyer, A. Julie, J.A. Sharp // *Nutrition.* – 2019. – № 57. – P. 259–267.

108. Fanaroff, A.A. *Neonatal-Perinatal Medicina* / A.A. Fanaroff, R.Y. Martin. – Mosby, 2002. – 1732 p.

109. Favé, G. Digestion des lipides Alimentaires: intérêt de la lipase gastrique humaine? / G. Favé, J. Peyrot, M. Hamosh, M. Armand // *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* – 2007. – № 42(4). – P. 183–190.

110. Ferranti, P. Casein proteolysis in human milk: Tracing the pattern of casein breakdown and the formation of potential bioactive peptides / P. Ferranti, M.V. Traisci, G. Picariello [et al.] // *J. Dairy Res.* – 2004. – № 71(01). – P. 74–87.

111. Frankel, E.N. Inhibition of lipase and lipolysis in milk / E.N. Frankel, N.P. Tarassuk // *J. Dairy Sci.* – 1959. – V.42. – № 3. – P. 409–419.

112. Fredrikzon, B. Bile salt stimulated lipase in human milk: evidence of activity in vivo and of a role in the digestion of milk retinol esters / B. Fredrikzon, O. Hernell, L. Blackberg, T. Olivecrona // *Pediatr. Res.* – 1978. – № 12. – P. 1048–1052.

113. Gabrielli, O. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation / O. Gabrielli, L. Zampini, T. Galeazzi, L. Padella, L. Santoro, C. Peila [et al.] // *Pediatrics*. – 2011. – № 128(6). – P. 1520–1531.

114. Gallier, S. A novel infant milk formula concept: Mimicking the human milk fat globule structure / S. Gallier, K. Vocking, J.A. Post [et al.] // *Colloids Surf B Biointerfaces*. – 2015. – Vol. 1. – № 136. – P. 329–339.

115. Gao, X. Temporal changes in milk proteomes reveal developing milk functions / X. Gao, R.J. McMahon, J.G. Woo [et al.] // *J. Proteome Res.* – 2012. – № 11(7). – P. 3897–3907.

116. Garcia, C. Structure of the human milk fat globule / C. Garcia, S. Innis // *Lipid Technol.* – 2013. – № 25(10). – P. 223–226.

117. Gargouri, Y. Gastric lipases: biochemical and physiological studies / Y. Gargouri, H. Moreau, R. Verger // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – № 1006. – P. 255–271.

118. Giuffrida, F. Quantification of phospholipids classes in human milk / F. Giuffrida, C. Cruz-Hernandez, B. Fluck [et al.] // *Lipids*. – 2013. – № 48(10). – P. 1051–1058.

119. González, H.F. Nutrients and neurodevelopment: lipids / H.F. González, S. Visentin // *Arch. Argent. Pediatr.* – 2016. – Vol. 1. – № 114(5). – P. 472–476.

120. Gregory, K.E. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants / K.E. Gregory, B.S. Samuel, P. Houghteling, G. Shan [et al.] // *Microbiome*. – 2016. – № 4(1). – P. 68.

121. Guo, M. Human Milk Biochemistry and Infant Formula / M. Guo // *In Manufacturing Technology*; Elsevier. – 2014. – 261 p.

122. Gura, T. Nature's first functional food / T. Gura // *Science*. – 2014. – № 345. – P. 747–749.

123. Hambraeus, L. Composition of human milk: nutritional aspects / L. Hambraeus // *Bibl. Nutr. Dieta.* – 1996. – № 53. – P. 37–44.



124. Hamosh M. Lingual and gastric lipase / M. Hamosh // *Nutrition*. – 1990. – № 6(6). – P. 421–428.
125. Hamosh, M. Bioactive Components in Human Milk / M. Hamosh // *Pediatric. Basics*. – 2002. – № 99. – P. 2–11.
126. Hamosh, M. Human milk in disease: lipid composition / M. Hamosh, J. Bitman // *Lipids*. – 1992. – № 27. – P. 848–857.
127. Hamosh, M. Lipoprotein lipase: its physiological and clinical significance / M. Hamosh, P. Hamosh // *Mol. Aspects. Med.* – 1983. – № 6. – P. 199–289.
128. Hassiotou, F. At the dawn of a new discovery: the potential of breast milk stem cells / F. Hassiotou, P.E. Hartmann // *Adv. Nutr.* – 2014. – Vol. 14. – № 5(6). – P. 770–778.
129. Hassiotou, F. Cells in human milk: state of the science / F. Hassiotou, D.T. Geddes, P.E. Hartmann // *J. Hum. Lact.* – 2013. – № 29(2). – P. 171–182.
130. Hellmuth, C. The impact of human breast milk components on the infant metabolism / C. Hellmuth, O. Uhl, H. Demmelmair, M. Grunewald [et al.] // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 1. – № 13(6). – e0197713.
131. Henderson, T.R. Gastric proteolysis in preterm infants fed mother's milk or formula / T.R. Henderson, M. Hamosh, M. Armand, N.R. Mehta, P. Hamosh // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2001. – № 501. – P. 403–408.
132. Hernell, O. Human milk bile salt-stimulated lipase: functional and molecular aspects / O. Hernell, L. Bläckberg // *J. Pediatr.* – 1994. – № 125(5 Pt 2). – S. 56–61.
133. Hernell, O. Human milk vs. Cow's milk and the evolution of infant formulas / O. Hernell // *Nestle Nutr Inst Workshop Ser Pediatr Program*. – 2011. – № 67. – P. 17–28.
134. Hernell, O. Molecular aspects of fat digestion in the newborn / O. Hernell, L. Bläckberg // *Acta. Paediatrica. Suppl.* – 1994. – № 405. – P. 65–69.

135. Holton, T.A. Following the digestion of milk proteins from mother to baby / T.A. Holton, V. Vijaykumar, D.C. Dallas, A. Guerrero [et al.] // *J. Proteome Res.* – 2014. – № 13(12). – P. 5777–5783.

136. Horta, B.L. Breastfeeding and intelligence in adulthood: due to genetic confounding? / B.L. Horta, F.P. Hartwig, C.G. Victora // *Lancet. Glob. Health.* – 2018. – № 6(12). – P. 1276–1277.

137. Indrio, F. Epigenetic Matters: The link between early nutrition, microbiome, and long-term health development / F. Indrio, S. Martini, R. Francavilla [et al.] // *Front Pediatr.* – 2017. – № 22(5). – P. 178.

138. Jones, J.B. Alpha-amylase in preterm human milk / J.B. Jones, N.R. Mehta, M. Hamosh // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1982. – № 1. – P. 43–48.

139. Karlsson, O. Detection of long non-coding RNAs in human breastmilk extracellular vesicles: Implications for early child development / O. Karlsson, R.S. Rodosthenous, C. Jara [et al.] // *Epigenetics.* – 2016. – № 5. – P. 90–95.

140. Khaldi, N. Predicting the important enzyme players in human breast milk digestion / N. Khaldi, V. Vijayakumar, D.C. Dallas, A. Guerrero [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2014. – № 62(29). – P. 7225–7232.

141. Kien, C.L. Digestion, absorption, and fermentation of carbohydrates / C.L. Kien, L.A. Heitlinger, B.U. Li, R.D. Murray // *Semin. Perinatol.* – 1989. – № 13(2). – P. 78–87.

142. Koletzko, B. Human milk: lessons from recent research / B. Koletzko // *Ann. Nutr. Metab.* – 2016. – № 69. – P. 28–40.

143. Küllenberg, D. Health effects of dietary phospholipids / D. Küllenberg, L.A. Taylor, M. Schneider, U. Massing // *Lipids Health Dis.* – 2012. – Vol. 5. – № 11. – P. 3.

144. Kulski, J.K. Changes in human milk composition during the initiation of lactation / J.K. Kulski, P.E. Hartmann // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* – 1981. – № 59(1). – P. 101–114.

145. Labrousse, V.F. Short-term long chain omega 3 diet protects from neuroinflammatory processes and memory impairment in aged mice / V.F. Labrousse, A. Nadjar, C. Joffre [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – № 7(5). – P. 36861.

146. Lebenthal, A. The ontogeny of the small intestinal epithelium / A. Lebenthal, E. Lebenthal // *J. Parenteral nutr.* – 1999. – № 23(5 Suppl). – S. 3–6.

147. Lemay, D.G. The bovine lactation genome: insights into the evolution of mammalian milk / D.G. Lemay, D.J. Lynn, W.F. Martin, M.C. Neville [et al.] // *Genome Biology*. – 2014. – № 10. – P. 43.

148. Liao, Y. Proteomic characterization of human milk whey proteins during a twelve-month lactation period / Y. Liao, R. Alvarado, B. Phinney, B. Lönnerdal // *Journal of Proteome Research*. – 2011. – № 10(4). – P. 1746–1754.

149. Lindberg, T. Amylase in human milk / T. Lindberg, G. Skude // *Pediatrics*. – 1982. – № 70. – P. 235–238.

150. Lindberg, T. Protease inhibitors and their relation to protease activity in human milk / T. Lindberg, K. Ohlsson, B. Westrom // *Pediatr. Res.* – 1982. – № 16. – P. 479–483.

151. Liu, B. Human milk mucin 1 and mucin 4 inhibit *Salmonella enterica* serovar typhimurium invasion of human intestinal epithelial cells in vitro / B. Liu, Z. Yu, C. Chen, D.E. Kling, D.S. Newburg // *J. Nutr.* – 2012. – 142. – P. 1504–1509.

152. Lonnerdal, B. Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk / B. Lonnerdal // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2004. – № 554. – P. 11–25.

153. Lönnerdal, B. Human Milk: Bioactive Proteins/Peptides and Functional Properties / B. Lönnerdal // *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*. – 2016. – № 86. – P. 97–107.

154. Lopez, C. Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure / C. Lopez // *Curr. Opin. Colloid. Interface. Sci.* – 2011. – № 16. – P. 391–404.

155. Lyman, S.D. Cloning of the human homologue of the murine flt3 ligand: a growth factor for early hematopoietic progenitor cells / S.D. Lyman, L. James, L. Johnson [et al.] // *Blood*. – 1994. – № 83(10). – P. 2795–2801.

156. M.J., van Herwijnen Comprehensive Proteomic Analysis of Human Milk-derived Extracellular Vesicles Unveils a Novel Functional Proteome Distinct from Other Milk Components / M.J. van Herwijnen, M.I. Zonneveld, S. Goerdal [et al.] // *Mol. Cell. Proteomics*. – 2016. – № 15(11). – P. 3412–3423.

157. MacDonald, M.G. Avery's Neonatology (6th Ed) / M.G. MacDonald, M.K. Seshia Mary; M.D. Mullett. – Phil. Lond: W.B. Saunders Company, 2005. – 2434 p.

158. Mann, S.E. Mathematic modelind of human amniotic fluid dynamics / S.E. Mann, M.J. Nijland, M.G. Ross // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – № 175(4 Pt1). – P. 937–944.

159. Mantovani, A. The chemokine system: redundancy for robust outputs / A. Mantovani // *Immunol.* – 1999. – № 20(6). – P. 254–257.

160. Mehta, N.R. Lipases in human milk: ontogeny and physiologic significance / N.R. Mehta, J.B. Jones, M. Hamosh // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1982. – № 1. – P. 317–326.

161. Melnik, B.C. Milk's Role as an Epigenetic Regulator in Health and Disease / B.C. Melnik, G. Schmitz // *Diseases*. – 2017. – Vol. 15. – № 5(1). – P. 12.

162. Michalski, M.C. Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels / M.C. Michalski, R. Cariou, F. Michel, C. Garnier // *J. Dairy Sci.* – 2002. – № 85(10). – P. 2451–2461.

163. Miles, E.A. The influence of the position of palmitate in infant formula triacylglycerols on health outcomes / E.A. Miles, P.C. Calder // *Nutr. Res.* – 2017. – № 44. – P. 1–8.

164. Moossavi, S. The prebiotic and probiotic properties of human milk: implications for infant immune development and pediatric asthma / S. Moossavi, K. Miliku, S. Sepehri, E. Khafipour, M.B. Azad // *Front. Pediatr.* – 2018. – № 6. – P. 197.

165. Moreau, H. Human preduodenal lipase is entirely of gastric fundic origin / H. Moreau, R. Laugier, Y. Gargouri, F. Ferrato, R. Verger // *Gastroenterology*. – 1988. – № 95. – P. 1221–1226.

166. Moreau, H. Immunocytolocalization of human gastric lipase in chief cells of the fundic mucosa / H. Moreau, A. Bernadac, Y. Gargouri // *Histochemistry*. – 1989. – № 91. – P. 419–423.

167. Morrow, A.L. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea / A.L. Morrow, G.M. Ruiz-Palacios, X. Jiang, D.S. Newburg // *The Journal of nutrition*. – 2005. – № 135(5). – P. 1304–1307.

168. Neu, J. Gastrointestinal development and meeting the nutritional needs of premature infants / J. Neu // *J. Clin. Nutr.* – 2007. – № 85. – S. 629–634.

169. Neu, J. Gastrointestinal maturation and implications for infant feeding / J. Neu // *Early Hum Dev.* – 2007. – № 83(12). – P. 767–775.

170. Neu, J. The neonatal gastrointestinal tract: developmental anatomy, physiology, and clinical implications / J. Neu, N. Li // *Neo Reviews*. – 2003. – № 4. – P. 7.

171. Neville, M.C. Milk secretion: an overview / M.C. Neville // [https://www.health-e-learning.com/articles/Neville\\_MILK\\_SECRETION\\_2008.pdf](https://www.health-e-learning.com/articles/Neville_MILK_SECRETION_2008.pdf)

172. Newburg, D.S. Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization / D.S. Newburg // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2000. – № 30. – P. 8–17.

173. Nielsen, S.D. Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization / S.D. Nielsen, R.L. Beverly, Y. Qu, D.C. Dallas // *Food Chemistry*. – 2017. – № 232. – P. 673–682.

174. Nielsen, S.D. Milk Proteins Are Predigested Within the Human Mammary Gland / S.D. Nielsen, R.L. Beverly, D.C. Dallas // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. – 2017. – № 22(4). – P. 251–261.

175. Nielsen, S.D. Release of functional peptides from mother's milk and fortifier proteins in the premature infant stomach / S.D. Nielsen, R.L. Beverly, M.A. Underwood, D.C. Dallas // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 29. – № 13(11). – e0208204.

176. Nommsen, L.A. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study / L.A. Nommsen, C.A. Lovelady, M.J. Heinig, B. Lonnerdal, K.G. Dewey // *The American journal of clinical nutrition*. – 1991. – № 53(2). – P. 457–465.

177. Oftedal, O.T. The evolution of milk secretion and its ancient origins / O.T. Oftedal // *Animal: an international journal of animal bioscience*. – 2012. – № 6(3). – P. 355–368.

178. Oliveira, Fr. Biochemical profile of amniotic fluid for the assessment of fetal and renal development / Fr. Oliveira, E.G. Barros, J.A. Magalhaes // *Braz. J. Med. Bio. Res.* – 2002. – № 35(2). – P. 215–222.

179. Palmer, D.J. Human colostrum: identification of minor proteins in the aqueous phase by proteomics / D.J. Palmer, V.C. Kelly, A.M. Smit [et al.] // *Proteomics*. – 2006. – № 6(7). – P. 2208–2216.

180. Pan, X.L. Variation of the ganglioside compositions of human milk, cow's milk and infant formulas / X.L. Pan, T. Izumi // *Early. Hum. Dev.* – 2000. – № 57(1). – P. 25–31.

181. Pang, W.W. Initiation of human lactation: secretory differentiation and secretory activation / W.W. Pang, P.E. Hartmann // *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. – 2007. – № 12(4). – P. 211–221.

182. Pereira, P.C. Milk nutritional composition and its role in human health / P.C. Pereira // *Nutrition*. – 2014. – № 30. – P. 619–627.

183. Peres, K.G. Breastfeeding and Oral Health: Evidence and Methodological Challenges / K.G. Peres, B.W. Chaffee, C.A. Feldens [et al.] // *J. Dent. Res.* – 2018. – № 97(3). – P. 251–258.

184. Pocknee, R.C. Origin and levels of trypsin in amniotic fluid throughout pregnancy / R.C. Pocknee, D.R. Abramovich // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1982. – № 89(2). – P. 142–144.

185. Poquet, L. Infant digestion physiology and the relevance of in vitro biochemical models to test infant formula lipid digestion / L. Poquet, T.J. Wooster // *Mol. Nutr. Food. Res.* – 2016. – № 60(8). – P. 1876–1895.

186. Prentice A. Regional Variations in the Composition of Human Milk / In: R.G. Jensen, editor. – *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, Inc.; San Diego, CA, 1995. – 919 p.

187. Reeds, P.J. Protein nutrition of the neonate. Plenary lecture / P.J. Reeds, D.G. Burrin, T.A. Davis, M.L. Fiorotto [et al.] // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 2000. – № 59. – P. 87–97.

188. Regnault, T.R. Fetoplacental transport and utilization of amino acid in IUGR – a review / T.R. Regnault, J.E. Friedman, R.B. Wilkening [et al.] // *Placenta*. – 2005. – № 26(Suppl A). – S. 52–62.

189. Rothman, S. Conservation of digestive enzymes / S. Rothman, C. Liebow, L. Isenman // *Physiol. Pev.* – 2002. – № 82. – P. 1–18.

190. Ruvoen-Clouet, N. Bile-salt-stimulated lipase and mucins from milk of ‘secretor’ mothers inhibit the binding of Norwalk virus capsids to their carbohydrate ligands / N. Ruvoen-Clouet, E. Mas, S. Mariounneau [et al.] // *Biochem. J.* – 2006. – № 393. – P. 627–634.

191. Saarela, T. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation / T. Saarela, J. Kokkonen, M. Koivisto // *Acta Paediatr.* – 2005. – № 94(9). – P. 1176–1181.

192. Saeland, E. MUC1 in human milk blocks transmission of human immunodeficiency virus from dendritic cells to T cells / E. Saeland, MAWPd Jong, A.A. Nabatov [et al.] // *Mol. Immunol.* – 2009. – № 46. – P. 2309–2316.

193. Sankar, M.J. Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis / M.J. Sankar, B. Sinha, R. Chowdhury [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2015. – № 104(467). – P. 3–13.

194. Savino, F. High serum leptin levels in infancy can potentially predict obesity in childhood, especially in formula-fed infants / F. Savino, S.A. Liguori, S. Benetti, M. Sorrenti [et al.] // *Acta. Paediatr.* – 2013. – № 102(10). – e455–459.

195. Sedykh, S.E. Human Milk Lactoferrin and Antibodies: Catalytic Activities, Complexes, and Other Features / S.E. Sedykh, V.N. Buneva, G.A. Nevinsky // *Milk Proteins – From Structure to Biological Properties and Health Aspects.* – 2016. – № 4. – P. 51–80.

196. Shahani, K.M. Milk Enzymes: their role and significance / K.M. Shahani // *J. Dairy Sci.* – 1966. – V. 8. – P. 907–920.

197. Sheridan, G.K. CX3CL1 is up-regulated in the rat hippocampus during memory-associated synaptic plasticity / G.K. Sheridan, A. Wdowicz, M. Pickering [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2014. – № 8. – P. 233.

198. Silanikove, N. Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture / N. Silanikove, U. Merin, G. Leitner // *Int. Dairy J.* – 2006. – № 16(6). – P. 533–545.

199. Spevacek, A.R. Infant Maturity at Birth Reveals Minor Differences in the Maternal Milk Metabolome in the First Month of Lactation / A.R. Spevacek, J.T. Smilowitz, E.L. Chin, M.A. Underwood [et al.] // *J. Nutr.* – 2015. – № 145(8). – P. 1698–1708.

200. Spoetl, T. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) inhibits the intestinal-like differentiation of monocytes / T. Spoetl, M. Hausmann, M. Herlyn // *Clin Exp Immunol.* – 2006. – № 145(1). – P. 190–199.

201. Vass, R.A. Distribution of bioactive factors in human milk samples / R.A. Vass, A. Kemeny, T. Dergez [et al.] // *Int. Breastfeed J.* – 2019. – № 14. – P. 9.

202. Verduci, E. Epigenetic effects of human breast milk / E. Verduci, G. Banderali, S. Barberi // *Nutrients.* – 2014. – Vol. 24. – № 6(4). – P. 1711–1724.

203. Victora, C.G. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect / C.G. Victora, R. Bahl, A.J. Barros // *Lancet.* – 2016. – Vol. 30. – № 387(10017). – P. 475–490.



204. Ville, E. Physiological study of pH stability and sensitivity to pepsin of human gastric lipase / E. Ville, F. Carrière, C. Renou, R. Laugier // *Digestion*. – 2002. – № 65. – P. 73–81.

205. Villeda, S.A. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function / S.A. Villeda, J. Luo, K.I. Mosher // *Nature*. – 2011. – № 477(7362). – P. 90–44.

206. Wauben, M.H.M. *Encyclopedia of Cell Biol.* / M.H.M. Wauben // *Organizational Cell Biol.* – 20002. – Vol. 2 – P. 302–310.

207. Witkowska-Zimny, M. Cells of human breast milk / M. Witkowska-Zimny, E. Kaminska-El-Hassan // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2017. – № 13. – P. 22.

208. Yolken, R.H. Human milk mucin inhibits rotavirus replication and prevents experimental gastroenteritis / R.H. Yolken, J.A. Peterson, S.L. Vonderfecht [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1992. – № 90. – P. 1984–1987.

209. Zhou, Q. Immune-related microRNAs are abundant in breast milk exosomes / Q. Zhou, M. Li, X. Wang // *Int. J. Biol. Sci.* – 2002. – № 8. – P. 118–123.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2627432

**Способ определения готовности новорожденного ребенка  
к естественному молочному вскармливанию**

Патентообладатели: *Государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Краевая клиническая больница N 2" министерства здравоохранения Краснодарского края (ГБУЗ "ККБ N 2") (RU), федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (RU), Пензюян Григорий Артемович (RU), Модель Галина Юрьевна (RU), Коротько Геннадий Феодосьевич (RU), Сысоева Ирина Петровна (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2016116458

Приоритет изобретения 26 апреля 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 08 августа 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 26 апреля 2036 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2018613663

**Определение стартового полиферментного дигестивного  
потенциала новорождённого**

Правообладатель: **Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования «Кубанский  
государственный университет» (ФГБОУ ВО «КубГУ») (RU)**

Авторы: **Халафян Алексан Альбертович (RU), Коротько Геннадий  
Феодосьевич (RU), Акиньшина Вера Александровна (RU), Модель  
Галина Юрьевна (RU)**

Заявка № 2018611050

Дата поступления 05 февраля 2018 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 21 марта 2018 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





УТВЕРЖДАЮ  
Зам. главного врача по акушерско-гинекологической помощи  
ГБУЗ "ККБ №2"

О.А. Шаповалова

« 04 » 03 2019

## АКТ

об использовании предложения в лечебном процессе

1. Наименование предложения: способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимическая характеристика стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденного".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии Г.Ю. Модель.
4. Дата использования предложения: с февраля 2019года.
5. Эффективность внедрения:  
Предложенный диссертантом способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию позволит выявлять дигестивный потенциал новорожденного, предупреждать ферментную мальдигестию, улучшить состояние и развитие ребенка на начальной стадии его жизни.

Зав. отделением новорожденных

*Бондаренко* Л.П. Бондаренко

Автор предложения

*Модель*  
Г.Ю. Модель



## АКТ

об использовании предложения в лечебном процессе

1. Наименование предложения: способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимическая характеристика стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденного".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии Г.Ю. Модель.
4. Дата использования предложения: с декабря 2018года.
5. Эффективность внедрения:  
Предложенный диссертантом способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию позволит выявлять дигестивный потенциал новорожденного, предупреждать ферментную мальдигестию, улучшить состояние и развитие ребенка на начальной стадии его жизни.

Зав. отделением новорожденных

Л.Н. Иноземцева

Автор предложения

Г.Ю. Модель



УТВЕРЖДАЮ

Главный врач ГБУЗ Родильный дом

А.П. Сторожук

04 2019

## АКТ

об использовании предложения в лечебном процессе

1. Наименование предложения: способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимическая характеристика стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденного".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии Г.Ю. Модель.
4. Дата использования предложения: с декабря 2018 года.
5. Эффективность внедрения:  
Предложенный диссертантом способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию позволит выявлять дигестивный потенциал новорожденного, предупреждать ферментную мальдигестию, улучшить состояние и развитие ребенка на начальной стадии его жизни.

Зав .отделением новорожденных

Автор предложения

В.Н.Петрухин

Г.Ю. Модель



УТВЕРЖДАЮ

Зам. главного врача по  
перинатальной помощи ГБУЗ ДККБ  
\_\_\_\_\_ Д.В. Томашевский

« 25 » 04 2019

## АКТ

об использовании предложения в лечебном процессе

1. Наименование предложения: способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимическая характеристика стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденного".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии Г.Ю. Модель.
4. Дата использования предложения: с декабря 2018 года.
5. Эффективность внедрения:  
Предложенный диссертантом способ определения готовности новорожденного ребенка к естественному молочному вскармливанию позволит выявлять дигестивный потенциал новорожденного, предупреждать ферментную мальдигестию, улучшить состояние и развитие ребенка на начальной стадии его жизни.

Зав. отделением для новорожденных

И.М. Данильченко

Автор предложения

Г.Ю. Модель



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной и воспитательной работе  
ФГБОУ ВО Куб ГМУ Минздрава России

Т.В. Гайворонская

" 01 " \_\_\_\_\_ 2019 г.

АКТ


об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: методические рекомендации по оценке стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденных.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимическая характеристика стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденного".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии Г.Ю. Модель.
4. Дата использования предложения: с января 2019года.
5. Эффективность внедрения:  
Предложенные диссертантом методические рекомендации по оценке стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденных позволит выявлять дигестивный потенциал новорожденного, предупреждать ферментную мальдигестию, улучшить состояние и развитие ребенка на начальной стадии его жизни

Зав. кафедрой педиатрии с курсом  
неонатологии ФПК и ППС

 Е.И. Клещенко

Автор предложения


 Г.Ю. Модель