DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-161-1-4-54

Лактотрофия младенцев в ракурсе дигестиологии (актовая речь)

Коротько Г. Ф.

ГБУЗ «Краевая Клиническая Больница № 2» Министерство Здравоохранения Краснодарского Края, Краснодар 350012, Россия

Lactotrophy of infants in terms of digestiology (Assembly speech)

G. F. Korot'ko

Regional Clinical Hospital № 2, Krasnodar 350012, Russia

Для цитирования: Коротько Г. Ф. Лактотрофия младенцев в ракурсе дигестиологии (актовая речь). Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;161(1): 4–54. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-161-1-4-54

For citation: Korot'ko G. F. Lactotrophy of infants in terms of digestiology (Assembly speech). *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019;161(1): 4–54. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-161-1-4-54

✉ *Corresponding author:*
Коротько Геннадий Феодосьевич
Gennadii F. Korot'ko
Scopus Author ID: 7005855604
korotko@rambler.ru

Коротько Геннадий Феодосьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки УзССР и Кубани, лауреат Премии Правительства Российской Федерации, действительный член (академик) и член-корреспондент нескольких общественных академий РФ, член правления Российского общества хирургов-гастроэнтерологов и член Американской ассоциации хирургов-гастроэнтерологов, научный консультант ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края

Gennadii F. Korot'ko, Ph. D (biology), professor, scientific consultant SBIHC "Regional Clinical Hospital № 2", Ministry of Health of Russia *ORCID: http://orcid.org/0000–0001–5410–433X*

Резюме

В Актовой речи рассмотрены актуальность молочного вскармливания младенцев, значимость в нем не только состава и свойств грудного молока, но и технологии ферментной деградации его нутриентов. Она, во-первых, производится по типу собственного пищеварения гидролазами пищеварительных желез и тонкой кишки ребенка, комплекс которых формируется антенатально и назван у новорожденного ребенка стартовым полиферментным дигестивным потенциалом. Его количественная характеристика возможна путем определения основных дигестивных гидролаз в околоплодных водах, в крови пуповины и желудочном аспирате младенца. Предложено выражение данного потенциала в балльной системе. При неполных сроках гестации дигестивный потенциал снижен.

Во-вторых, гидролиз нутриентов грудного молока производится его же гидролазами по типу аутолитического пищеварения. Исследована динамика секреции гидролаз молочными железами здоровых женщин в течение одного года лактации. Описана количественная зависимость секреции гидролаз от ее величины в первый лактационный месяц при общей тенденции к снижению содержания гидролаз в молоке с увеличением помесячного срока лактации, зависимость секреции ферментов грудными железами от возраста рожениц. В лактотрофии актуальна динамичная конвергенция полиферментных дигестивных потенциалов системы пищеварения ребенка и принимаемого им материнского молока.

Гидролазы молока по результатам пептидомического анализа ауто- и инрагастрального протеолиза грудного молока рассматриваются не только в роли трофотропных участников деградации его нутриентов, но и образования протеазами молока функционально полипотентных регуляторных пептидов с характерным изменением их числа и содержания в динамике кормления ребенка и сроков гестации.

Summary

The relevance of milk-feeding of babies, the importance of not only the composition and properties of breast milk, but also the technology of enzymatic degradation of its nutrients are cosidered In the Assembly speech. First, it is produced according to the type of its own digestion by hydrolases of the digestive glands and the small intestine of the infant, the complex of which is formed antenatally and called the starting multienzyme digestive potential in the newborn child. Its quantitative characterization is possible by determining the main digestive hydrolases in the amniotic fluid, in the blood of the umbilical cord and in the gastric aspirate of the infant. The expression of this potential in the point system is proposed. With incomplete gestation, the digestive potential is reduced. Secondly, hydrolysis of breast milk nutrients is carried out by its own hydrolases in the autolytic type of digestion. The dynamics of secretion of hydrolases by the mammary glands of healthy women during one year of lactation was studied. The quantitative dependence of the hydrolase secretion on its value in the first lactation month is described with a general tendency to a decrease in the hydrolase content in milk with an increase in the monthly lactation period, and the dependence of the secretion of enzymes by the mammary glands from the age of the pregnant women. The dynamic convergence of the multienzyme digestive potentials of the child's digestion system and the mother's milk it takes is relevant in lactotrophy. Based on the results of peptidic analysis of auto-and inragastral proteolysis of breast milk, milk hydrolases are not only considered as trophotropic participants in the degradation of its nutrients, but also in formation of by milk proteases functionally multipotent regulatory peptides with a characteristic change in their number and content in the dynamics of infant feeding and timing of gestation.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Совместные работы физиологов, акушеров и педиатров были начаты автором Актовой речи в Андижанском медицинском институте (Узбекистан) в 70-х годах прошлого столетия и продолжались многие годы.

Наиболее значимыми явились исследования У. М. Мирзакаримова, Н. Ф. Камакина, К. И. Абдусаламовой, В. Р. Канторовича, Н. Н. Чуканина и др.

Эти и другие работы вошли в монографию М. М. Шехтмана, Г. Ф. Коротько, С. Г. Буркова «Физиология и патология органов пищеварения у беременных», изданную в 1989 году в Ташкенте (Изд. «Медицина» УзССР). С разъездом из Андижана в начале 90-х годов основных исполнителей животрепещущей научной тематики работы были продолжены в г. Кирове (Вятке) профессором Н. Ф. Камакиным по ферментным системам биожидкостей беременных женщин и родильниц, подытоженные в двух монографиях (Е. В. Колодкина, Н. Ф. Камакин) и многих журнальных статьях. В Краснодаре другой исполнитель и соисполнитель данной тематики – профессор Г. Ф. Коротько был многие годы в сотрудничестве с хирургами и гастроэнтерологами, в последние годы издал 3 монографии и несколько журнальных статей по возрастной тематике и совместно с профессором Г. А. Пенжояном и Г. Ю. Модель на базе Краевой клинической больницы №2 (Краснодар) выполнил исследования стартового дигестивного потенциала системы пищеварения новорожденных детей – разделу современной неонатологии. В планах, что засвидетельствовано в статьях Г. Ф. Коротько, намечалось увлеченно связать эту научную тематику в комплекс с физиологией лактотрофии естественномолочно вскармливаемых детей, чем мы занимались в Андижане. Но планы эти пока даже начально не реализованы. Поэтому решено опубликовать уже наработанные научные материалы и соответствующие данные отечественной и зарубежной литературы. Это также стимулировалось оживлением научных энзимологических исследований грудного молока зарубежными учеными. Такое предисловие к настоящей публикации нам представилось своевременным и немаловажным, тем более, что автор Актовой речи накануне своего 90-летия и, видимо, это его «лебединая песня».

Автор посвящает Актовую речь сотрудникам и · коллегам, результаты совместного труда с которыми составили предмет настоящего печатного издания, передаваемого на суд специалистов и всех, кому в научном и прикладном плане интересна проблема молочного вскармливания младенцев.

ВВЕДЕНИЕ

Питание – непременное условие жизни. Оно состоит в поступлении, переваривании, всасывании и усвоении организмом пищевых или питательных веществ (нутриентов), необходимых для покрытия пластических и энергетических нужд организма, образования физиологически активных и защитных веществ. Различают питание естественное (экзогенное и эндогенное) и искусственное (клиническое зондовое энтеральное и паретеральное), лечебное и лечебно-профилактическое. При всех видах естественного питания его обязательным компонентом выступает процесс пищеварения. Это сложный физиологический и биохимический процесс, в ходе которого принятая пища в пищеварительном тракте подвергается физическим и химическим изменениям, в результате компоненты пищи, сохранив свою пластическую и энергитическую ценность, но утратив видовую и индивидуальную специфичность, приобретают способность быть усвоенными и включенными в обмен веществ организма.

Индивидуальное развитие зачатого макроорганизма делят на два этапа: внутриутробный (40 недель) и внеутробный (последующие 17-18 лет). Первый имеет фазы эмбрионального развития (8 недель) и плацентарного развития (с 9 по 40 недели), которая делится на ранний фетальный (9-28 недели) и поздний фетальный (с 29 недели до рождения) периоды. Внутриутробное развитие завершается интранатальным периодом или родами (2-20 ч). Внеутробный этап или неонатальный период состоит из раннего (7 дней) и позднего (8-28 дней). Далее по возрастам: грудной (29 день – 1 год), преддошкольный (1-3 года), дошкольный (4-6 лет), младший школьный (7-11 лет), старший школьный (12-17 лет). Соответственно названы антенатальный, перинатальный и постнатальный этапы онтогенеза человека (рис. 1).

Fig. 1
Periods of children's age, types of nutrition and digestion

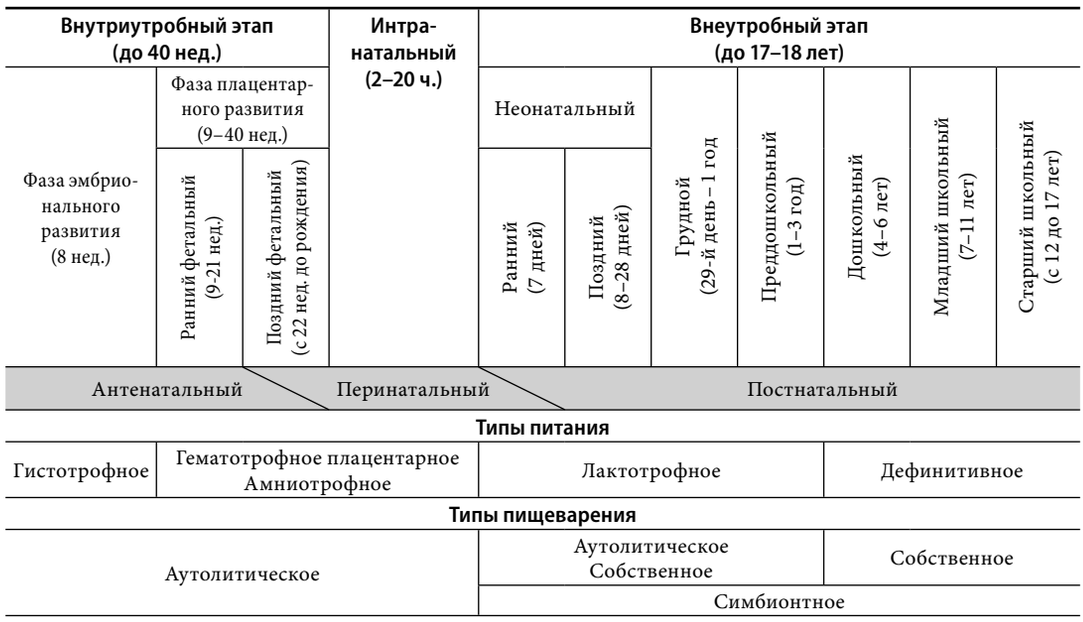

Рисунок 1. Периоды детского возраста, типы питания и пищеварения [1,2,3]

На этапах онтогенеза макроорганизм последовательно имеет пять типов питания: гистотрофный, гематотрофный или трансплацентарный, амниотрофный, лактотрофный и дефинитивный[1,3].

Оплодотворенная яйцеклетка и эмбрион имеют гистотрофный тип питания (гистотрофия), потребляя в роли нутриентов вещества цитоплазмы яйцеклетки, секрета слизистой оболочки матки, желточного мешка. Гистотрофия, длящаяся 8-10 недель, не имеет пищеварения в его традиционном понимании, когда пищей названы вещества, поглощаемые из внешней среды. В гистотрофии содержимое мешка гидролизуется энзимами эмбриона. Эмбрион посредством плаценты, образуемой из трофоблоаста, переходит на трансплацентарное питание. Так завершается эмбриональный период и начинается фетальный (ранний и поздний), длящийся с 9-10 недель гестации до конца внутриутробного развития плода.

Гемотрофное питание (гемотрофия) производится транспортом питательных веществ из крови будущей матери к плоду через плаценту. Плацентарный барьер неодинаково проницаем для различных веществ. Так, глюкоза, аминокислоты и дипептиды из крови матери переходят в фетальную кровь и используются плодом. Постулируется, что плацента непроницаема для белков, липидов и полисахаридов, но они, поступив в нее в составе крови матери, гидролизуются ферментами плаценты, образовавшиеся гидролизаты (в основном мономеры) переходят в кровь плода. В плаценте выявлена протеолитическая, липолитическая и карбогидразная активности. Плацента синтезирует белок и гликоген, которые используются плодом.

С 16-20 недель беременности начинается деятельность органов пищеварения плода и совместно с гемотрофным трансплацентарным питанием функционирует амниотрофное питание (амниотрофия). Оно состоит в поступлении околоплодных вод или амниотической жидкости в желудочно-кишечный тракт плода, откуда многие ее компоненты всасываются, а некоторые предварительно гидролизуются ферментами пищеварительных желез и тонкой кишки плода и самой амниотической жидкости. Продукты гидролиза и негидролизованные ее компоненты утилизируются эпителиоцитами кишечника плода, всосавшиеся в его кровь вещества включаются в метаболизм, используются как энергетический и пластический материал. В целом, амниотрофия завершает антенатальный период развития плода [1, 3], в том числе формирование его системы пищеварения, адаптированной к постнатальной лактотрофии, описание которой составило предмет настоящего издания.

Типы питания сопряжены с типами пищеварения: собственное, аутолитическое, симбионтное (см. рис 1).

Такое деление пищеварения на типы обусловлено происхождением гидролитических ферментов, производящих молекулярную деградацию нутриентов. Собственное пищеварение обеспечивается ферментами пищеварительных желез и тонкой кишки макроорганизма, принявшего пищу; аутолитическое – гидролазами, содержащимися в самой принятой пище; симбионтное – гидролазами кишечной микробиоты макроорганизма (рис. 2)

Fig.2
Types of digestion against origin of hydrolytic enzymes (according to A.M. Ugolev),
Ф – enzymes;
ПГ – hydrolytic products of nutrients;
C – symbionts
ПВ – nutrients (proteins, fats, carbohydrates) in food content, that assimilated macroorganism consumes.

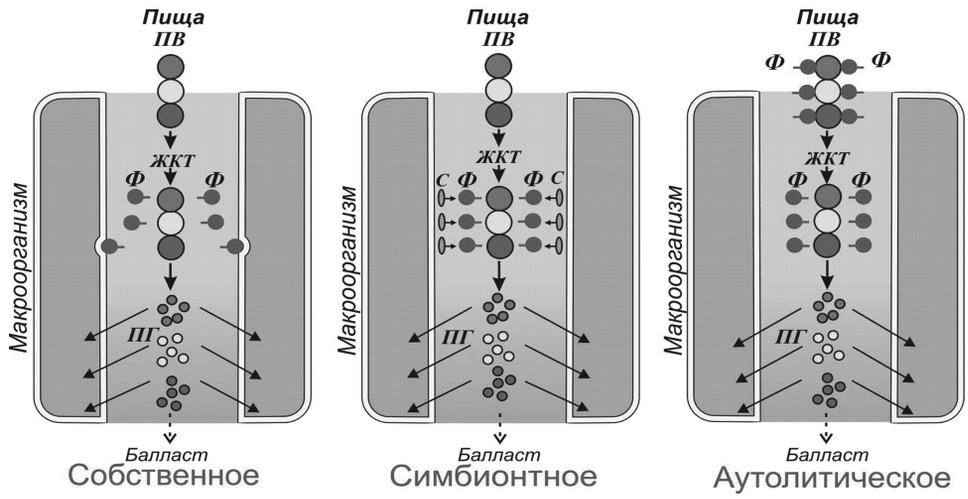

Рисунок 2. Типы пищеварения в зависимости от происхождения гидролитических ферментов (по А. М. Уголеву [13]):

Ф – ферменты; ПГ – продукты гидролиза питательных веществ; С – симбионты, ПВ – питательные вещества (белки, жиры, углеводы) в составе пищи, принимаемой ассимилирующим макроорганизмом.

В зависимости от локализации процесса пищеварения его делят на внеклеточное, внутриклеточное (цитоплазматическое и вакуолярное) и внеклеточное (полостное или дистантное и контактное или пристеночное, в том числе мембранное) (рис. 3)

Fig.3
Main types of digestion against its localization
A – extracellular,
Б – intracellular cytoplasmic,
B – intracellular vacuolar or extra-plasmatic combined with fagocytosis and pinocytosis,
Г – membranous;
1- extracellular medium, 2 – intracellular medium,
3 – digestive vacuole, lysosoma, 5 – cell nucleus,
6 – cell membrane,
7 – enzymes,
8 – food parts.

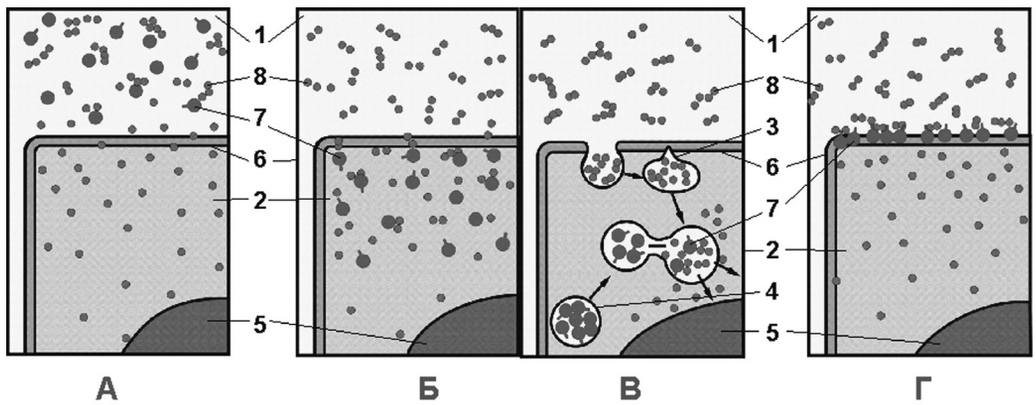

Рисунок 3. Основные типы пищеварения в зависимости от его локализации [13]:

А – внеклеточное, Б – внутриклеточное цитоплазматическое, В – внутриклеточное вакуолярное или экстраплазматическое, связанное с фагоцитозом и пиноцитозом, Г – мембранное; 1 – внеклеточная среда, 2 – внутриклеточная среда, 3 – пищеварительная вакуоль, лизосома, 5 – ядро клетки, 6 – клеточная мембрана, 7 – ферменты, 8 – частицы пищи.

А.М. Уголев [4, 5] в аутолитическом пищеварении выделил его разновидность – индуцированный аутолиз. Индукция производится неферментными

(например, HCl) и ферментными факторами пищеварительного тракта, в котором происходит аутолитическое пищеварение. А.М. Уголев делал акцент на роль индукторов в деградации клеточных структур и активации внутриклеточных гидролаз, не отрицая внеклеточный аутолиз.

Нам представляется реальным внеклеточный индуцированный аутолиз в полостях пищеварительного тракта плода и ребенка в амниотрофии и лактотрофии. При этом в роли индукторов деградации нутриентов выступают снижение pH среды гидролиза, производящие не только активацию пепсиногенов, но и денатурацию субстратных белков, что повышает их атакуемость протеиназами. В роли индукторов выступают также протеиназы слюны и желудочного сока, высвобождающие липиды из глобул грудного молока; липазы, принимающие участие в начальном гидролизе его липидов в глобулах и вне их по типу собственного пищеварения. Это является примером совмещения аутолитического и собственного пищеварения. Следовательно, индуцированное пищеварение можно представить достаточно распространенным типом пищеварения в амниотрофии плода и лактотрофии ребенка. Схематически индуцированное аутолитическое пищеварение представлено на рис. 4.

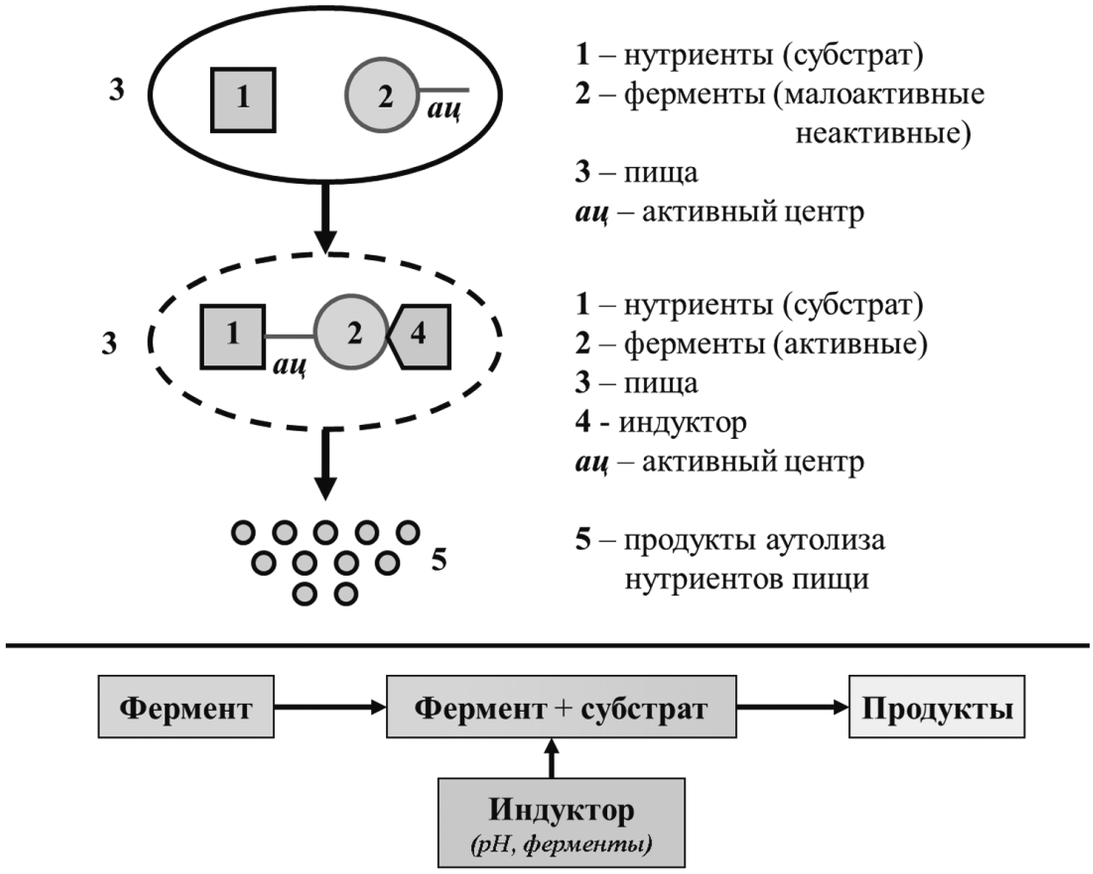

Fig.4
Induced autolysis of food nutrients
1 – nutrients (substrate)
2 – enzymes (low active, inactive)
3 – food ац – active centre
1 – nutrients (substrate)
2 – enzymes (active)
3 – food
4 – inductor ац – active centre
5 – autolytic products of food nutrients
Enzyme ––enzyme+substrate ––-products
Inductor

Рисунок 4. Индуцированный аутолиз нутриентов пищи [13]

Сложен и уникален состав и свойства грудного молока, рассмотрение которых за пределами задач настоящей актовой речи и которым посвящено огромное число публикаций. В числе нутриентов молока белки, пептиды, липиды и углеводы, подлежащие дигестии посредством гидролаз пищеварительных желез и тонкой кишки по типу собственного пищеварения, а также гидролаз грудного молока по типу аутолитического пищеварения. Не исключено наименее изученное в лактотрофии и симбионтное пищеварение.

Ранее и более остальных ферментов педиатров заинтересовала липолитическая активность грудного молока [6, 7, 8, 9, 10]. Это может найти объяснение в достаточно высоком содержании в молоке липидов, которые в организме вскармливаемого материнским молоком ребенка выполняют роль энергетических и пластических веществ, обладают антибактериальными, антивирусными и антимикозными свойствами [15]. У младенца, вскармливаемого молоком с низким содержанием липидов, отмечены многие функциональные нарушения [11, 12, 13, 14]. Немаловажным свойством липидов выступают многопричинная вариабельность их содержания в молоке, нестабильность при его хранении, приводящая к появлению горького вкуса из-за ферментной деградации [15]. Аутолиполиз имеет место при низкой активности панкреатической липазы в ранний постнатальный период.

Липиды, в основном триглицериды, покидают лактоцит по механизму апокриновой секреции, будучи заключены в оболочку плазмолеммы апикальной части эпителиоцита в виде липидной глобулы – капли. Липидные глобулы лактоцитов грудных желез в составе молока в полости желудка «атакуются» липазами слюны и желудочного сока, куда они могут проникать из-за своей гидрофобности. Основной липолиз липазами молока происходит в тонкой кишке, откуда абсорбируются конечные продукты липолиза, а также продукты гидролиза мембраны липидных глобул.

В целом аутолизис липидов молока его липазой требует индукции данного процесса лингвальной и желудочной липазами в липидной глобуле, в полости желудка и тонкой кишки в широком диапазоне pH среды. При этом желудочная и лингвальная липазы в результате гидролиза триглицеридов образуют в основном диглицериды и жирные кислоты, панкреатическая липаза – моноглицериды и жирные кислоты, липаза молока – жирные кислоты и глицерол [10].

Аутолиполиз молока можно отнести к индуцированному аутолитическому пищеварению в предложенном А.М. Уголевым понимании – липиды молока при определенных условиях перевариваются его же липазой. Нам представляется, что такими индуцирующими условиями являются начальные действия лингвальной и желудочной липаз в липидной глобуле, куда они проникают из-за своей гидрофобности, затем ведут липолиз в полости желудка. Последующее гидролитическое действие на липиды молока производят по типу аутолитического пищеварения ее липазы в двенадцатиперстной кишке при обязательном содействии этому солей желчных кислот, которые можно отнести к индукторам липазы молока. Это отличает липазу молока от лингвальной, желудочной и панкреатической, определив название липазы молока как зависимой от наличия солей желчных кислот. Следовательно, липаза молока производит гидролиз триглицеридов по принципу аутолитического индуцированного пищеварения при pH 5,2–9,8 [16]. Популярная версия этого процесса представлена на рисунке 5.

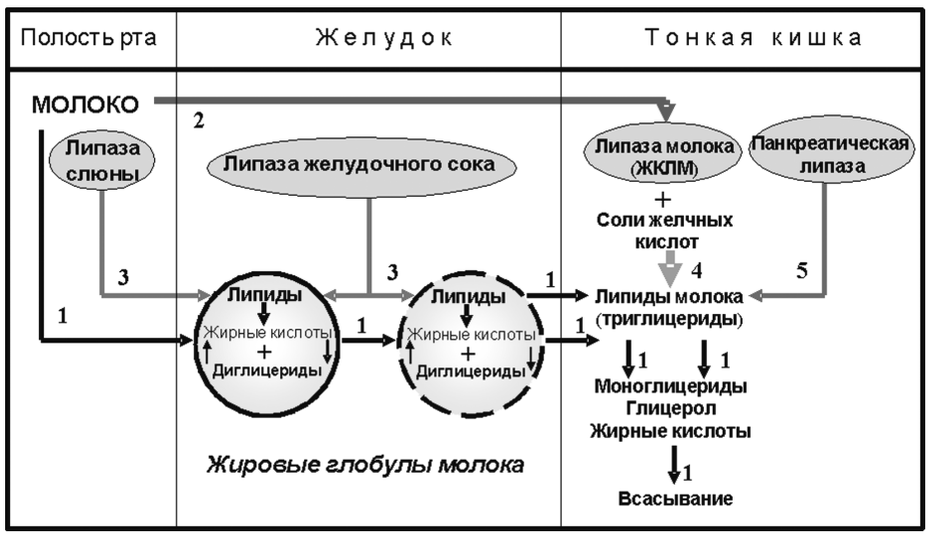

Fig.5
Hydrolysis of milk lipids
1 – transport of substrates and hydrolytic products;
2 – transport of milk lipase. Effect of lipase according to digestive type;
3 – induced and own for milk lipase,
4 – autolytic,
5 – own

Рисунок 5. Гидролиз липидов молока:
1 – транспорт субстратов и продуктов липолиза; 2 – транспорт липазы молока. Влияние липаз по типу пищеварения: 3 – индуцирующее и собственное для липаз молока, 4 – аутолитическое, 5 – собственное.

Сложен и многоцелевой состав белков грудного молока. Одни из них играют роль нутриентов (казеин), другие – иммунопротекторов (SIgA, IgM, IgG), защитную роль (лактоферрин), антибактериальную (лизоцим) и другие защитные действия различного назначения ферментов и антиферментов, многочисленных биорегуляторов.

Примером является гидролиз основного белка – нутриента – казеина. В его деградации принимает участие собственное, аутолитическое, индуцированный протеолиз (рис. 6).

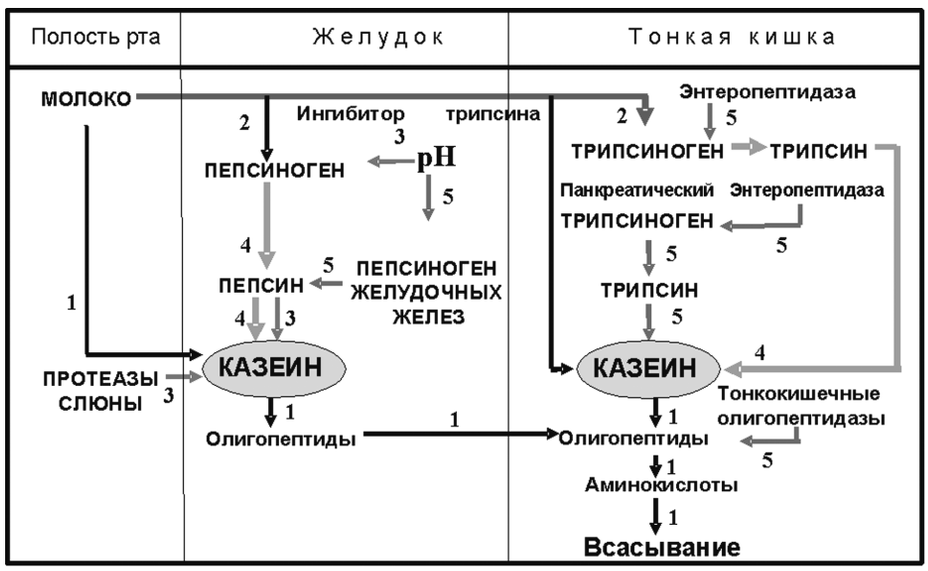

Fig. 6
Hydrolysis of milk casein
1 – Transport of substrates and hydrolytic products;
2 – transport of zymogen milk protease.
Effect of proteinase against digestive type:
3 – induced,
4 – autolytic,
5 – own

Рисунок 6. Гидролиз казеина молока:
1 – транспорт субстратов и продуктов протеолиза; 2 – транспорт зимогенных протеаз молока. Влияние протеиназ по типу пищеварения: 3 – индуцированное, 4 – аутолитическое, 5 – собственное.

Основной, практически единственный, дисахарид грудного молока лактоза гидролизуется тонкокишечной дисахаридазой лактазой по принципу пристеночного пищеварения. Лактазная активность слизистой оболочки тонкой кишки высокая у ребенка в период лактотрофии, постепенно снижаясь к его завершению и переходу к дефинитивному питанию с нарастанием сахаразной активности тонкой кишки (рис. 7).

Fig. 7
Aged changing of lactasa and carbo-isomaltase activities in man ileal mucosa.

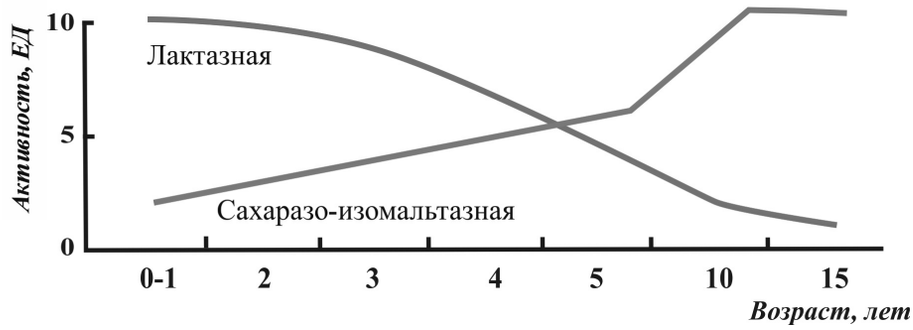

Рисунок 7. Возрастные изменения лактазной и сахаразо-изомальтазной активностей слизистой оболочки тонкой кишки человека [17]

Итак, лактотрофия ребенка обеспечивается собственным пищеварением и аутолитическим пищеварением.

СТАРТОВЫЙ ПОЛИФЕРМЕНТНЫЙ ДИГЕСТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НОВОРОЖДЕННОГО РЕБЕНКА

Стартовый полиферментный дигестивный потенциал системы пищеварения новорожденного ребенка – это фетально сформированные активности гидролаз данной физиологической системы, от которого совместно с гидролазами самого грудного молока зависит эффективность лактотрофии. Определение стартового дигестивного потенциала позволяет прогнозировать эффективность лактотрофии, индивидуализировать программу естественного и смешанного вскармливания ребенка. Термин и содержание понятия данного потенциала предложены Г.А. Пенжояном, Г.Ю. Модель, Г.Ф. Коротько – сотрудники ГБУЗ ККБ №2 в 2017 году[18] и составляют предмет данной части настоящего издания.

Естественное молочное вскармливание новорожденного ребенка признано «золотым стандартом» благодаря уникальным нутритивным, иммунным, регуляторным, защитным, электролитным и витаминным свойствам грудного молока, а также его многочисленных заменителей [19-21]. Усвоение нутриентов молока младенцем требует их предварительного гидролиза в системе пищеварения, что реализуется гидролитическими ферментами пищеварительных желез и тонкой кишки ребенка по типу собственного пищеварения и ферментами молозива и зрелого молока по типу аутолитического пищеварения [22-24]. Аутолиз липидов и протеинов (казеина) молозива и молока индуцируется и реализуется в полости желудка и тонкой кишки гидролазами

пищеварительных желез младенца, сформировавшимися в антенатальный период его развития. Их гидролазы составляют стартовый дигестивный потенциал пищеварительного тракта новорожденного [18]. Определение данного ферментного потенциала в перинатологии, неонаталогии и педиатрии ни в научном, ни в прикладном плане не стало объектом актуализации, да и само понятие предложено нами недавно, хотя снижение данного морфофункционального потенциала может выступать фактором риска в развитии новорожденного ребенка.

Материалы и методы исследования

В числе 76 обследованных родильниц 36 имели доношенную (37-41 недели) и 40 недоношенную (27-36 недель) беременности. 47 детей родились при физиологических родах, 29 – при кесаревом сечении. Исследование произведено с предварительным письменным согласием родителей в соответствии с действующим Федеральным «Законом об охране здоровья граждан» от 21.11.2011, № 323-ФЗ и решением комитета по этике. У новорожденных были определены антропометрические данные, проведена оценка по шкале Апгар и некоторые антропометрические параметры и акушерского анамнеза в соответствии с Приказом министерства здравоохранения РФ от 15.11.2012, № 921 Н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Неонатология». Как видно из таблицы 1, вышеназванные параметры у недоношенных детей были существенно ниже, чем у детей доношенных.

Таблица 1

Показатели родильниц, доношенных детей (36, числитель) и недоношенных детей (49, знаменатель)

Переменные	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Нижняя квартиль	Верхняя квартиль	Направление сдвига, статистическая значимость
Возраст матери (годы)	27,67 / 30,75	28,0 / 31,5	14,0 / 19,0	41,0 / 44,0	24,5 / 27,5	30,5 / 35,0	p< 0,5
Гестационный возраст (недели)	38,03 / 32,00	38,0 / 33,0	38,0 / 27,0	39,0 / 35,0	38,0 / 30,0	38,0 / 34,0	↓ p< 0,001
Масса (г)	3546,4 / 1765,2	3595,0 / 1715,0	2460,0 / 670,0	4800,0 / 3130,0	3170,0 / 1335,0	3835,0 / 2150,0	↓ p< 0,001
Рост (см)	53,47 / 41,27	54,0 / 42,0	46,0 / 33,0	59,0 / 48,0	52,0 / 37,0	55,5 / 46,0	↓ p< 0,001
Окружность головы(см)	34,14 / 28,58	34,0 / 30,0	31,0 / 17,0	37,0 / 35,0	33,0 / 26,0	35,5 / 31,0	↓ p< 0,001
Окружность груди	33,31 / 26,28	33,0 / 27,0	27,0 / 16,0	37,0 / 33,0	32,0 / 24,0	35,0 / 29,0	↓ p< 0,001
Апгар 1 (баллы)	7,9 / 5,5	8,0 / 6,0	7,0 / 1,0	8,0 / 7,0	8,0 / 5,0	8,0 / 6,0	↓ p< 0,001
Апгар 5 (баллы)	8,7 / 6,0	9,0 / 6,0	8,0 / 1,0	9,0 / 8,0	8,0 / 6,0	9,0 / 7,0	↓ p< 0,001
Безводный промежуток (ч)	3,4 / 2,05	2,0 / 0,0	0,0 / 0,0	21,0 / 41,0	0,0 / 0,0	5,0 / 0,1	↓ p< 0,001

Table 1
Puerperal Indices of mature newborn (36, nominator) and premature one (49, denominator)

Околоплодные воды получали у родильниц в стерильные шприцы, центрифугировали (10 мин., 3000 оборотов). Кровь новорожденных получалась

из их пуповины, кровь матери – из локтевой вены. У новорожденных аспирировалось натощаковое желудочное содержимое, которое гомогенизировалось и центрифугировалось (10 мин., 3000 оборотов). В супернатантах околоплодных вод и желудочного аспирата, сыворотке крови пуповины ребенка и сыворотке крови матери определялись: липаза, α-амилаза, щелочная фосфатаза колориметрическими методами стандартными наборами реактивов для диагностики in vitro (фирмы Roche) на модульной платформе для биохимического и иммунохимического анализа Cobas-8000 (модуль C 702), α-1-антитрипсин (реагент F1-Antitripsin) на биохимическом анализаторе Architect C 8000 фирмы Abbott, метод турбидиметрии; пепсиногены I и II методами хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах реактивами фирмы Abbott на иммунологическом анализаторе Architecrplus: 2000.

Статистическая обработка данных реализована при участии математика-профессора А.А. Халафяна в среде пакета Statistica 6 методами непараметрической статистики, так как названные выше параметры имели большой разброс и их эмпирические значения не соответствовали нормальному закону распределения. Произведен корреляционный анализ ферментных показателей.

Целью исследования явилась количественная характеристика стартового дигестивного потенциала пищеварительного тракта новорождённого посредством определения гидролаз пищеварительных желёз младенца в его сыворотке крови, желудочном аспирате и околоплодных водах.

Гидролазы сыворотки крови родильниц и сыворотки крови пуповины новорожденных детей при нормальных и неполных сроках гестации

Доказано, что содержание гидролаз пищеварительных желез в сыворотке крови человека состоит в прямой зависимости от числа и активности гландулоцитов желёз-продуцентов соответствующих ферментов [9]. В сыворотке крови родильниц содержание гидролаз выше (рис. 8), чем в сыворотке крови пуповины новорождённых младенцев (рис. 9).

Fig. 8
Puerpera blood serum Hydrolase
– mature newborn,
– premature newborn

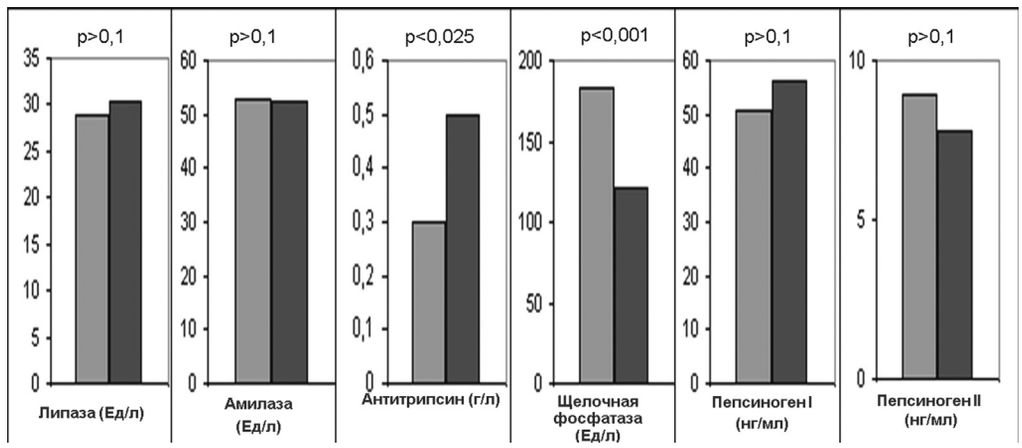

Рисунок 8. Гидролазы сыворотки крови матери (родильницы)

- доношенные дети, - недоношенные дети

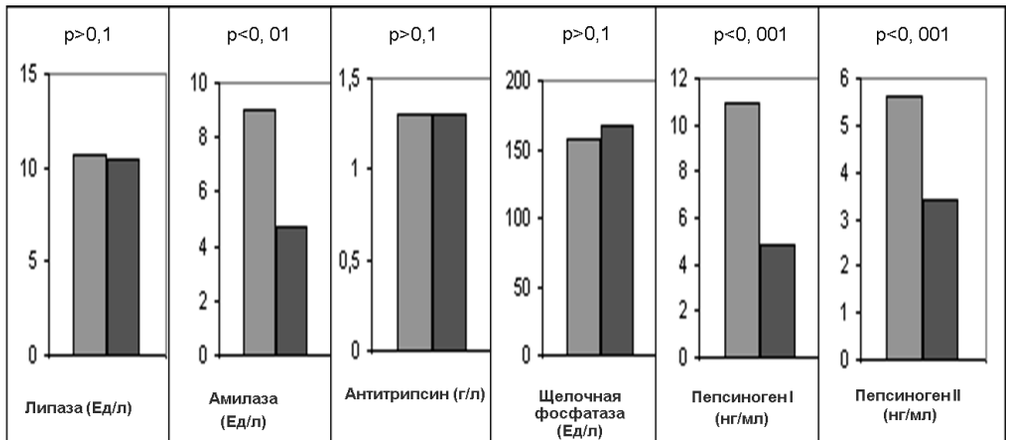

Fig. 9
Newborn umbilical blood serum Hydrolase
– mature newborn,
– premature newborn

Рисунок 9. Гидролазы сыворотки крови пуповины новорожденного ребенка

- доношенные дети, - недоношенные дети

Это отражает неполную сформированность у них ферментного потенциала пищеварительных желёз. Для разных гидролаз стартовый уровень их содержания в сыворотке крови различен, что свидетельствует об асинхронности морфофункционального созревания ферментных систем плода и новорождённого. Наиболее задержаны в развитии продуценты пепсиногенов – железы желудка (особенно пепсиногена I) и продуцентов α-амилазы – слюнных и поджелудочной желёз (табл. 2). Антитриптическая активность сыворотки пуповинной крови младенца была в 4,5 раза выше, чем сыворотки крови его матери.

Родившие доношенных и недоношенных детей родильницы не различались в содержании ферментов сыворотки крови, за исключением щелочной фосфатазы. Сыворотка пуповинной крови недоношенных детей содержала амилазу и пепсиногены I и II в более низкой концентрации, чем сыворотка крови пуповины доношенных новорождённых (рис. 9). Сниженная амилолитическая активность секретов желёз у недоношенных младенцев может быть причиной мальдигестии при смешанном и искусственном вскармливании детей, так как большинство питательных смесей содержит гидролизуемые α-амилазой полисахариды. Грудное молоко этого субстрата не содержит.

Таблица 2

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
2,89 / 2,88	7,1 / 10,7	1,15 / 0,69	6,3 1 / 1,3	2,79 / 3,37

Table 2
Median ratio (times) of Hydrolase content in puerperal blood serum and newborn umbilical blood serum in maturity (nominator) and prematurity (denominator).

Неполная гестация резко снижает и без того ещё несформированный пептический потенциал фундо-антро-дуоденальных продуцентов пепсиногенов.

Это может отразиться на гидролизе и метаболизме протеинов недоношенных младенцев, на образовании из них (в основном казеина грудного молока) регуляторных пептидов [25-33], на реализации протеолиза в лактотрофии. Данное утверждение основано на постулате взаимодействия в желудочно-кишечном тракте протеаз грудного молока и экзосекретов пищеварительных желез [26, 27, 30], нашедших в недавнее время подтверждение пептидомики и масс-спектрохроматоскопии, по результатам которой протеиназы экзосекретов (желудочного аспирата) в 1,5-2,5 раза увеличивают гидролитический эффект протеиназ грудного молока лактирующих женщин [30]. В этой связи напомним, что протеиназы молока (как и других гидролаз) имеют характерную саморегулируемую динамику за период лактации [2, 34].

Недоношенность новорожденных на содержание липазы в сыворотке крови пуповины не влияла. Это свидетельствует о формировании низкого стартового уровня продукции липазы пищеварительными железами плода в более ранние сроки гестации, чем других учтенных нами ферментов, завершаясь к третьему триместру гестации, до ее сроков, принятых недоношенностью.

О не сформированном при недоношенной беременности стартовом дигестивном потенциале засвидетельствовало сниженное содержание в сыворотке крови пуповины младенца трех гидролаз: α-амилаза, пепсиногены I и II. Другие гидролазы такой информации не имели. Это находит объяснение в том, что ферментный гомеостаз в крови обеспечивается не только транспортом в ее состав соответствующих энзимов и зимогенов путем инкреции и резорбции, но и удаления из кровотока посредством разных механизмов тех же ферментов, о чем сказано выше и явилось предметом многих экспериментальных и клинических исследований (Обзоры: [35, 36]). Поэтому относительное постоянство содержания гидролаз на том или ином уровне является результатом сбалансированности данных сложных разнонаправленных регулируемых процессов. У новорожденных по трем гидролазам проявлены низкие величины содержания в крови и их большие колебания, что свидетельствует о низком ферментном потенциале и его вариабельности, и, следовательно, ограниченной диагностической информативности.

Гидролазы пищеварительных желез в околоплодных водах

Объем и состав околоплодных вод исследованы в норме и при акушерской патологии во многих работах разного времени. Установлено содержание в околоплодных водах ферментов, в том числе и гидролаз пищеварительных желез [37, 38]. Однако информационные критерии гидролаз о ферментном потенциале желез исследованы недостаточно, особенно механизмы происхождения в околоплодных водах этой группы ферментов [9]. Считается, что в разные сроки гестации гидролазы в околоплодных водах имеют разное происхождение, но в конце ее происходят в основном из пищеварительных желез плода [37]. Не отрицается участие в генезе гидролаз околоплодных вод и плаценты [39, 40], а также транспорта гидролаз из крови беременной женщины [35, 39, 40]. Видимо, это дополнительные, а не основные источники ферментов в амниотической жидкости. Данные вопросы недавно были предметом наших публикаций [34].

Как видно из рисунка 10, в околоплодных водах родильниц с нормальным сроком гестации содержание гидролаз отличается от такового в сыворотке крови новорожденных (рис. 9) и их родильниц (рис. 8). Околоплодные воды имеют более высокое содержание, чем в сыворотке крови родильниц α-амилазы, α-1-антитрипсина, пепсиногена I и особенно пепсиногена II (на два порядка). По щелочной фосфатазе различия несущественные. Содержание липазы в околоплодных водах ниже, чем в сыворотке пуповинной крови (в 5 раз) и еще более (в 15 раз) отличается (ниже) от среднего показателя сыворотки крови родильницы.

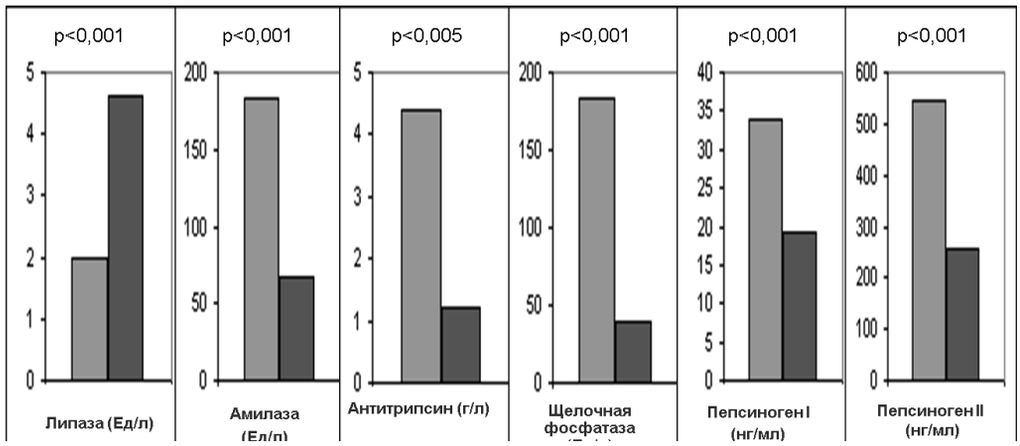

Fig. 10
Amniotic fluid Hydrolase
– mature newborn,
– premature newborn

Рисунок 10. Гидролазы околоплодных вод

- доношенные дети, - недоношенные дети

Нельзя не отметить умеренные статистически значимые корреляционные связи содержания гидролаз в околоплодных водах и сыворотке крови пуповины: для α-амилазы r=0,63; для пепсиногена I r=0,68; для пепсиногена II r=0,50; для щелочной фосфатазы r=0,52. Можно заключить, что гидролазы околоплодных вод информативны об индивидуальной морфофункциональной незрелости пищеварительных желез плода и новорожденного.

При недоношенной беременности околоплодные воды содержат все гидролазы, за исключением липазы, в меньшей концентрации, чем при доношенной беременности, сниженность содержания гидролаз статистически высоко достоверная (p<0,005-0,001).

О различии механизма происхождения гидролаз пищеварительных желез в системном кровотоке новорожденных, их матерей и околоплодных водах свидетельствует весьма высокое содержание в околоплодных водах пепсиногена II, многократно отличающееся от пепсиногена I. Это нами обнаружено впервые. Данный факт можно объяснить ранним созреванием у плода продуцентов тонкокишечных ферментов [24, 41-43], а пепсиноген II синтезируется в основном пилорическими и дуоденальными железами. Это объясняет высокое содержание данного изопрофермента в околоплодных водах и при недоношенной беременности. Надо предположить транспорт в околоплодные воды и регур-

гитированного желудочного содержимого в результате дуодено-гастро-орального рефлюкса, который у плодов и новорожденных является частым явлением [18, 20], а в содержимом их желудка нами документировано более высокое содержание пепсиногена II, чем пепсиногена I. Соответствующие доказательства этого многократного различия приведены в таблице 2.

Высокая гидролитическая активность околоплодных вод, большой объем их транспорта в пищеварительный тракт плода посредством глотания, дыхания и засасывания позволяет заключить об участии гидролаз околоплодных вод в гидролизе нутриентов содержимого желудочно-кишечного тракта, обеспечивая тем самым амниотрофию с ее специфическим аутолитическим и собственным пищеварением, необходимыми в питании структур слизистой оболочки пищеварительного тракта.

Гидролазы аспирированного желудочного содержимого новорожденных

Аспирированное натощаковое содержимое желудка новорожденного является смесью секретов желез желудка, дуоденального содержимого (секрета поджелудочной железы, дуоденального секрета, желчи), проглоченных ротовой жидкости (секрета слюнных желез, десневой жидкости) и околоплодных вод. В связи с отсутствием периодической деятельности пищеварительной системы у новорожденных младенцев [2] объем и состав аспирированного желудочного содержимого относительно стабильны и отражают суммарную секреторную активность названных пищеварительных желез, в том числе их ферментовыделение.

Fig. 11
Newborn gastric content
Hydrolase
– mature newborn,
– premature newborn

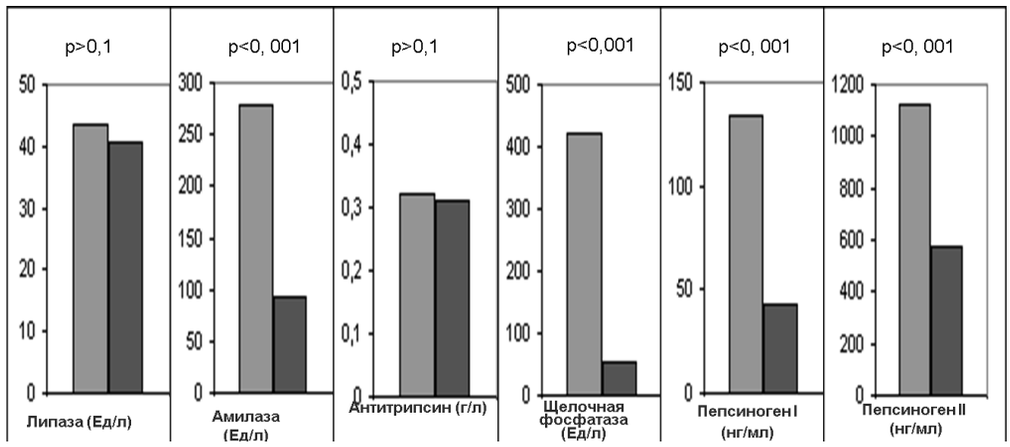

Рисунок 11. Гидролазы содержимого желудка новорожденного ребенка

- доношенные дети, - недоношенные дети

Как видно из представленных на рисунке 11 данных, аспирированный из желудка полисекрет имел высокое содержание α-амилазы, липазы и пепсиногенов, особенно пепсиногена II; все 76 порций желудочного содержимого имели бóльшую концентрацию пепсиногена II, чем пепсиногена I. Это было и в околоплодных водах. Концентрация одноименных гидролаз в желудочном аспирате и околоплодных водах имела умеренные статистически значимые ко-

эффициенты корреляции: для амилазы r=0,57; для пепсиногена IIr=0,60. Нами отмечена сильная взаимосвязь между 5-ю ферментами околоплодных вод и желудочного аспирата: коэффициент канонической корреляции Rкан=0,82 (которая характеризует степень или силу взаимосвязи между двумя списками переменных). Результаты этих выкладок подтверждают сформулированное выше наше открытие еще одного физиологического механизма происхождения в околоплодных водах высокой концентрации гидролаз пищеварительных желез – дуодено-гастро-оральной регургитации (рефлюкса) в амнион.

Высокая ферментативная активность содержимого желудочно-кишечного тракта, обеспечиваемая фетальными ферментами пищеварительных желез и энтероцитов реализует полостное, пристеночное и внутриклеточное пищеварение плода, в том числе и его амниотрофию. В неонатальные и последующие сроки индивидуального развития ребёнка гидролазы его пищеварительного тракта, составившие его стартовый дигестивный потенциал, совместно с гидролазами грудного молока реализуют лактотрофию с характерными для нее собственным и аутолитическим типами (включая индуцированный подтип) пищеварения.

Протеазы слюны повышают «атакуемость» казеина пепсинами и трипсином in vitro, в желудке и тонкой кишке в соответствующих условиях (pH среды) производится аналогичное взаимодействие протеиназ в лактотрофии [2]. В серии недавних работ, отнесённых к энзимной пептидомике, установлено путем нано-хроматографической идентификации образовавшихся в основном при гидролизе β-казеина пептидов, суммирование протеолиза, производимого секреторными протезами в желудке ребёнка и подобными протезами инкубируемого в его желудке (2 ч) материнского молока. При этом эффекты плазмина не изменялись или снижались в 1,3 раза, эффекты катепсина D возросли в 2,3 раза, пепсина – в 2,4; эластазы – в 1,6; химотрипсина – в 2,5; пролинэндопептидаз – в 1,5 раз. Следовательно, аутопротеолиз молока секреторными протеазами увеличился в желудке протеазами младенца более чем двукратно [25].

Педиатры проявляют немалый интерес к липолитической активности молока и его липидам, играющим большую энергетическую, пластическую, нутритивную и защитную роль в лактотрофии ребёнка. Технология липолиза многоступенчатая: совершается липазами слюны 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) [19, 34, 44]. Высвобождение триглицеридов из жировых глобул молока совершается в полости желудка гидрофобными липазами слюны и желудочного секрета, которые также выступают в роли индукторов лингвальной и гастральной липаз младенца (рис. 5). Материал мембран глобул признан ценным для младенца продуктом и в последнее время используется в качестве добавки к молочным смесям. Кстати, липолитическая активность молока медленнее снижается по месяцам лактации, чем содержание в молоке других гидролаз [34].

В грудном молоке человека нет субстрата для α-амилазы, но в желудочном аспирате её активность велика. Она, по утвердившемуся суждению, значима

в гидролизе полисахаридов в продуктах прикорма при смешанном и искусственном вскармливании детей [19]. Гидролиз основного углевода молока лактозы совершается лактазами молока и тонкокишечной слизистой. Данным ферментам посвящено огромное число исследований. Лактаза не включена нами в секреторный потенциал и не определялась в желудочном аспирате, будучи одной из дисахаридаз тонкокишечного мембранного пищеварения [43].

Представленные на рисунке 11 результаты свидетельствуют о нескольккратном снижении содержания гидролаз, кроме липазы и антитрипсина, в желудочном аспирате недоношенных детей по сравнению с доношенными, и это имеет количественную информативность о секреторном дигестивном потенциале новорожденных младенцев.

Обращение к технологии лактотрофии позволяет заключить о принципиальной важности для её реализации секреторных гидролаз пищеварительных желёз, образующих дигестивный потенциал новорождённого. В связи с этим важна его количественная характеристика не только при неполных, но и нормальных сроках гестации.

Это тем более важно, что в группе недоношенных детей, имевших в основном сниженный дигестивный потенциал, нередко констатировались более высокие, чем средние величины содержания гидролаз в желудочном аспирате, околоплодных водах и сыворотке пуповинной крови, а у младенцев группы с нормальными сроками гестации отмечались несколько пониженные от средних величин ферментные показатели трех биожидкостей. Данное явление имело место в пограничные сроки гестации, формально принятые недоношенностью или доношенностью. Такие результаты актуализируют определение дигестивного потенциала новорожденных в родах как диагностического теста в трофологическом прогнозе развития новорожденных детей. Полученный материал из-за его большой цифровой вариабельности и количественной недостаточности не позволяет назвать референсные ферментные параметры нормального стартового дигестивного потенциала. Для этого требуется дальнейший набор фактического материала в означенном проблемном разделе неонатологии, а на современном уровне знаний только резкое снижение количественно описанного стартового дигестивного потенциала по содержанию гидролаз в околоплодных водах и сыворотке крови пуповины может служить надежным прогностическим сигналом трофологического неблагополучия новорожденного.

Шкалы для балльной оценки стартового полиферментного дигестивного потенциала системы пищеварения новорожденных детей

Бальные шкалы широко применяются в оценке различных явлений и параметров, в том числе в здравоохранении и клинической медицине, в медико-биологических дисциплинах. Данный прием имеет положительные и отрицательные стороны, в числе последних количественная нестрогость и непозволительность статистической обработки, выраженной в баллах оценочной информации. С учетом основных критериев бальных цифровых шкал, обилия и вариабельности числовой характеристики нескольких

ферментативных активностей нескольких биологических жидкостей как параметров дигестивных (пищеварительных) возможностей новорожденных детей в гидролизе основных питательных веществ материнского молока и их заменителей, нам представилось возможным составление оценочной матрицы в баллах соответствующих показателей содержания ферментов и их зимогенов. Сумма их в баллах должна характеризовать генеральный дигестивный потенциал, а каждый слагаемый в этой сумме должен характеризовать селективно одну из активностей и, следовательно, возможность гидролиза одного из основных нутриентов – липидов, белков, углеводов, соответственно – липазы, протеиназ, карбогидраз.

Мы сочли возможным в нашей когорте новорожденных применить трёхбалльную шкалу по каждому из параметров (рис. 12). За средний балл «2» взять цифровой интервал между нижней и верхней квартилями (см. таблицу3), в этот интервал, естественно, входят средние величины и медианы каждого из параметров. Балл «1» будут иметь числовые выражения от нижней квартили до минимума или показатели величиной меньше, чем нижняя квартиль. Балл «3» будут иметь числовые выражения от верхней квартили до максимума или показатели величиной больше, чем верхняя квартиль.

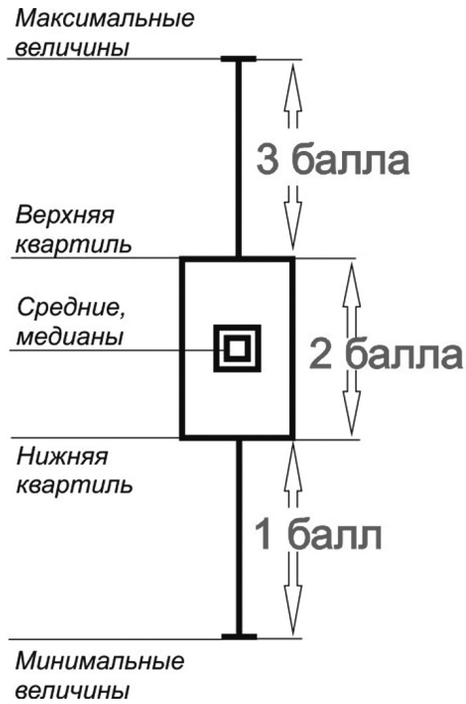

Fig. 12
Enzymatic analytes value intervals transformed to points

Рисунок 12. Интервалы величин ферментных аналитов, переведенные в баллы

Понятно, что с баллом «2» будут «средние величины» содержания фермента или зимогена в одной из биожидкостей. Данный интервал, конечно же, широк, так как ни один из этих параметров не является у новорожденных детей (да и не только у них) жестко гомеостазируемым.

Таблица 3

Table 3
Transformation of bio-liquids activities to points (1, 2, 3) of digestive potential (matrix)

Перевод ферментативных активностей биожидкостей в баллы (1, 2, 3) дигестивного потенциала (матрица)

Ферменты	Желудочный аспират			Околоплодные воды			Сыворотка крови пуповины			Сыворотка крови матери		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Липаза (ед/мл)	<4,4	4,4 - 41,9	>41,9	<2,1	2,1-4,6	>4,6	<8,3	8,3-12,1	>12,1	<23,3	23-31,1	>31,1
Амилаза (ед/мл)	<44	44 - 103	>103	<92	92-229	>229	<5,0	5-6	>6	<48,5	48,5-61,5	>61,5
Пг I (нг/мл)	<44,6	44,6 - 58	>58	<24,8	24.8-38	>38	<6,7	6,7-10,9	>10,9	<38,3	38,3-58,8	>58,8
Пг II (нг/мл)	<148	148 - 681	>681	<320	320-734	>734	<2,4	2,4-4,6	>4,6	<5,6	5,6-18,7	>18,7
ЩФ (ед/л)	<32	32 - 55,3	>55,3	<74	74-167	>167	<134	134-181	>181	<135	135-136	>136
АТР (г/л)	<0,3	0,3 - 0,3	>0,3	<0,3	0,3-0,3	>0,3	<1,2	1,2-1,4	>1,4	<0,3	0,3-0,3	>0,3

В анализируемой для примера когорте доношенных (31) и недоношенных (32) новорожденных детей с полным набором аналитов у каждого из обследованных пар детей и их родильниц (матерей) (33) сумма баллов составила 1337, из которых 667 баллов относится к доношенным и 670 к недоношенным детям. У когорты доношенных детей средний балл 51,3, у недоношенных 41,9. У 26 доношенных младенцев из 31 имели баллы 49 и выше, что составило 84%. В этой когорте 5 младенцев имели более низкие баллы. В когорте недоношенных детей 49 баллов и выше имели 7 детей, что составило почти 22 %. Следовательно, некоторые доношенные дети имели сниженный дигестивный потенциал, а недоношенные дети – дигестивный потенциал, свойственный детям с нормальным сроком гестации. Такие средние показатели по всей когорте с наиболее полно исследованным дигестивным потенциалом (4 биожидкости и 6 аналитов-ферментов в них) свидетельствуют о необходимости определения стартового дигестивного потенциала у каждого доношенного и недоношенного ребенка, так как нормальный срок гестации не гарантирует достаточности стартового дигестивного потенциала, а неполный срок гестации не обязательно чреват пониженным стартовым дигестивным потенциалом.

Широта интервала квартилей делает средние значения в принципе приемлемыми не только для данной когорты новорожденных. В чем мы убедились, проанализировав другую когорту 72-х новорожденных детей, из которых 51 доношенные и 21 недоношенные. У них широта интервала квартилей оказалась для липазы (Ед/л) 6,6–12,1 (8,3–12,1); амилазы (Ед/л) – 5,0-10,0 (5,0–6,0); Пг I (нг/мл) – 4,2–10,3 (6,7–10,3); Пг II (нг/мл) – 2,8–18,8 (2,4–4,6). В скобках приведены интервалы основной когорты доношенных и недоношенных новорожденных (76). Приведенные результаты свидетельствуют об относительно небольших отличиях интервалов квартилей. Тем не менее, они есть. Поэтому нам представляется рациональным определять данный интервал в анализи-

руемых когортах и принимать его как показатель стартового полиферментного дигестивного потенциала за два балла. Исследования такого плана должны быть продолжены. При этом величины ферментативной активности биожидкостей могут отличаться от приведенных по ряду технических причин, в том числе из-за применения иных методов определения ферментов и зимогенов.

Таблица 3 является матрицей в основной анализируемой когорте детей и их матерей для нахождения баллов по одной из шести ферментативной активности и одной из взятых проб четырех биожидкостей (желудочный аспират, околоплодные воды, сыворотка крови пуповины ребенка, сыворотка крови матери). Если анализируется 4 биожидкости, в каждой из которых определяются 6 ферментов, а их содержание наибольшее – 3 балла, то максимальная сумма баллов для каждого младенца составит 72 балла (3×6×4), при наименьшем содержании – 1 балл (0 – не бывает) минимальный суммарный балл (т.е. сумма баллов) составит 24 (6×4×1).

Если в анализе используется три биожидкости, т.е. исключена наименее информативная сыворотка венозной крови матери, и в остальных трех жидкостях определяется четыре фермента (исключены наименее информативные два фермента – липаза и антитрипсин), то максимально возможная сумма баллов для данного младенца 36 баллов (4×3×3), а минимальная сумма баллов – 12 (4×3×1).

Если избран минимальный исследовательский вариант забора и ферментного анализа только двух биожидкостей (например, околоплодных вод и сыворотки крови пуповины или другой пары биожидкостей) и в них определяются те же четыре фермента, то максимальная сумма баллов 24 (4×2×3), а минимальная – 8 (4×2×1).

В изданных нами Методических рекомендациях [45] приведены цифровые материалы балльной оценки стартового полиферментного дигестивного потенциала обследованных новорожденных детей с полными и неполными сроками гестации, по пяти шкалам оценки стартового потенциала (табл. 4 – см. аббревиатуру).

Представляется возможным резюмировать полученные материалы с акцентом на видимые нам их научную новизну и практическую значимость.

Созревание продуцентов разных гидролаз у плода происходит гетерохронно. Раньше других созревают железы тонкой кишки, затем железы, синтезирующие липазу, как наиболее функционально значимую (актуальную) в лактотрофии в роли индуктора липолиза и самого липолиза в пищеварительном тракте грудного ребенка [22, 34, 41]. Такими железами являются слюнные и желудочные. Это обеспечивает наличие в СЖ пепсиногенов, особенно Пг II.

Важным, механизмом происхождения гидролаз в ОВ является оральное выведение в них содержимого полости рта, желудка и тонкой кишки, в том числе ферментов слюнных, желудочных, поджелудочной и дуоденальных желез плода.

Слюнные и желудочные железы плода и новорожденного ребенка продуцируют фетальные протеиназы. Первые важны в продукции индукторов желудочных и поджелудочных фетальных протеиназ.

Фетальными желудочными протеиназами являются иммунно-идентифицируемые Пг II и Пг I новорожденных. Пг II в СЖ и ОВ новорожденного ре-

Таблица 4

Table 4
Point scores in estimation of polyenzymatic newborn initial digestive potential

Балльные шкалы в оценке полиферментного стартового дигестивного потенциала новорожденных детей

Шкала I - 4×6: четыре биожидкости: содержимое желудка (**СЖ**), околоплодные воды (**ОВ**), сыворотка крови пуповины (**СКП**), сыворотка крови матери (**СКМ**); шесть ферментов: липаза (**Л**), амилаза (**А**), щелочная фосфатаза (**ЩФ**), пепсиноген I (**Пг I**), пепсиноген II (**Пг II**), антитрипсин (**АТ**), то есть:

Шкала I - 4×6: **СЖ, ОВ, СКП, СКМ – Л, А, ЩФ, Пг I, Пг II, АТ** (max **72**/opt **48**)

Шкала II - 4×4: **СЖ, ОВ, СКП, СКМ – А, ЩФ, Пг I, Пг II** (max **48**/opt **22**)

Шкала III - 3×4: **СЖ, ОВ, СКП – А, ЩФ, Пг I, Пг II** (max **36**/opt **24**)

Шкала IV - 2_1×4: **СЖ, СКП – А, ЩФ, Пг I, Пг II** (max **24**/opt **16**)

Шкала V - 2_2×4: ОВ, СКП – А, ЩФ, Пг I, Пг II (max **24**/opt **16**)

бенка, в отличие от желудочного сока и сыворотки крови взрослого человека, содержится в многократно превышающей концентрации по сравнению с Пг I (который у здоровых взрослых превышает в сыворотке крови содержание Пг II в 2–3 раза) [19]. Высокая продукция дуоденальными железами и железами желудка новорожденного ребенка Пг II, способного с большой скоростью гидролизовать казеин, имеет важное адаптивное значение в лактотрофии грудного ребенка, принципиально важен в естественном молочном вскармливании новорожденного младенца.

Полиорганная и полипотентная щелочная фосфатаза сниженным содержанием при недоношенной беременности информирует о незавершенном антенатальном остеосинтезе, морфофункциональной незрелости печени и тонкой кишки.

Относительно небольшая выборка в анализе когорты не позволила определить величины, которые можно рекомендовать в качестве нормы или референсного интервала. В целом же три фермента – α-амилаза, Пг I и Пг II – следует признать информативными в СКП, ОВ и СЖ новорожденных об их стартовом ферментном потенциале пищеварительных желез, сниженном при недоношенной беременности (или по иным причинам). В этом плане ферменты трех биожидкостей существенных различий информативности не имеют, но ферменты СКП в сравнении с таковыми СКМ имеют особый диагностический интерес; ферменты ОВ имеют разные источники и механизмы происхождения, выступают как интегральный показатель дигестивного ферментного потенциала пищеварительного тракта новорожденного младенца. И, наконец, гидролазы желудочного аспирата являются непосредственными прямыми свидетельствами активности пищеварительных желез как продуцентов соответствующих гидролитических ферментов.

Низкая секреторная активность пищеварительных желез плода и, следовательно, новорожденного ребенка, ферменты которых обеспечивают их собственное полостное пищеварение, недостаточна для эффективной дигестии и объясняет актуальность участия в ней аутолитического пищеварения посредством ферментов молозива, обладающего высокой ферментативной активностью, и в дальнейшем – ферментов зрелого грудного молока [13, 17]. 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 СЖ, СКП и ОВ.

Определение гидролитических ферментов СКП и СЖ новорожденных, ОВ, и их изменений при неполных сроках гестации позволяют заключить об их происхождении и диагностической информативности в оценке дигестивного потенциала новорожденного и по результатам его оценки определить тактику естественного и смешанного вскармливания, обоснование их коррекции и технологии в зависимости от установленной потенциальной недостаточности пищеварения новорожденного ребенка, поэтому перспективно внесение определения данного функционального гастроэнтерологического потенциала в число параметров индивидуального клинико-лабораторного статуса новорожденного. Это требует дальнейшего поиска и совершенствования методов количественной оценки дигестивного потенциала новорожденных детей.

Резюмируя накопленный нами неонатологический материал и его обсуждение, представляется возможным подвести некоторые итоги.

- Гидролазы секретов пищеварительных желёз и тонкой кишки новорождённых составляют антенатально сформированный стартовый дигестивный потенциал их системы пищеварения.
- Морфофункциональное созревание продуцентов разных гидролаз системы пищеварения плода и ребёнка происходит гетерохронно: раньше других созревает система пищеварения тонкой кишки, затем – желёз-продуцентов липазы, за ними – и фетальных протеиназ и α-амилазы.
- Наиболее полно и адекватно дигестивный стартовый потенциал системы пищеварения новорождённого ребёнка характеризуется содержанием гидролаз в желудочном аспирате и околоплодных водах, менее информативно в этом плане содержание гидролаз в сыворотке крови пуповины младенца.
- При неполных сроках гестации дигестивный потенциал системы пищеварения снижен в разной степени по разным системам гидролаз.
- Невысокая ферментативная активность данного потенциала требует при лактотрофии обязательного участия в собственном и аутолитическом пищеварении ферментов молозива и затем зрелого грудного молока.
- Определение стартового дигестивного потенциала системы пищеварения новорождённых младенцев перспективно в определении тактики естественного и смешанного вскармливания ребёнка или вида вынужденного искусственного вскармливания.

ГИДРОЛАЗЫ ГРУДНОГО МОЛОКА В ЛАКТОТРОФИИ

Лактотрофия явилась основой для названия млекопитающими огромного зоологического класса позвоночных теплокровных животных (до 4000 видов), что подчеркивает витальную актуальность вида питания в современной классификации фауны. Грудное молочное вскармливание – чрезвычайно важный период жизни ребенка. Лишь материнское молоко может обеспечить растущий организм необходимыми пластическими и энергетическими веществами в условиях еще недостаточно сформированного пищеварительного аппарата. Через молоко осуществляется связь ребенка с матерью, что важно не только в поставке ребенку макро- и микронутриентов, но и обеспечении иммунной защиты ребенка и формировании его микробиоты. С молоком матери ребенок получает витамины, минеральные соли, ряд физиологически важных веществ, в том числе факторы роста, гормоны и ферменты разного физиологического назначения. Одна их группа участвует в биосинтезе компонентов молока молочной железой (например, монопротеинлипаза, фосфоглюкомутаза, синтетаза жирных кислот, лактозосинтетаза). Вторая группа ферментов важна в сохранении компонентов молока (например, ингибиторы протеиназ). Третья группа ферментов необходима в роли антибактериальных и антивирусных веществ (например, лизоцим, пероксидаза, липопротеинлипаза). Четвертая группа ферментов участвует в реализации транспортных процессов (например, ксантиноксидаза, глутатионпероксидаза, щелочная фосфатаза). Пятая группа ферментов – это гидролазы, участвующие в молекулярной деградации нутриентов молока – липазы, карбогидразы, протеазы, которым посвящена настоящая публикация.

Часто используемое в характеристике молочного вскармливания детей выражение «золотой стандарт» приемлем к нему как технологии, но не к грудному молоку, так как «стандарт» – это шаблон, трафарет, нечто статичное. Молоко, наоборот, характеризуется вариабельностью множества его параметров, свойств, состава, полипотентностью. Это относится к обязательному варьированию количества секретируемого молока, содержания и соотношения содержания в нем макро- и микронутриентов, нестабильности защитных, в том числе иммунных компонентов, гормонов и факторов роста, гидролитических ферментов, что названо биоактивными компонентами грудного молока. В настоящее время ведутся активные исследования многих из них, создаются питательные смеси-заменители молока для искусственного вскармливания младенцев. При этом, конечно же, стараются моделировать естественный продукт.

Липазы и карбогидразы грудного молока

Ранее других гидролаз педиатров заинтересовала липолитическая активность грудного молока [3, 7, 8, 9, 15], что связано с достаточно высоким варьирующим содержанием в молоке липидов (от 31 до 52 г/л) и выполнением ими роли энергетических и пластических веществ, обладающих антибактериальными и антимикозными свойствами [10]. В отличие от других нутриентов грудного молока, содержание в нем липидов вариабельно [46]. У младенцев,

вскармливаемых молоком с низким содержанием липидов, отмечены многие функциональные нарушения [12, 16, 18, 20]. Аутолиполиз молока важен из-за практически отсутствия у новорожденных детей панкреатической липазы. Аутолиполизу содействуют липазы ротовой жидкости и желудочных желез младенцев [22].

Липиды, в основном триглицериды, покидают лактоциты по механизму апокринной секреции, будучи заключены в оболочку плазмолеммы апикальной мембраны лактоцита в виде липидной глобулы сложного состава. Эти глобулы в полости желудка атакуются липазами слюны (ротовой жидкости) и желудочного сока, проникая в глобулу из-за своей гидрофобности, разрушая мембрану глобулы и высвобождая из нее липиды. Компоненты и соотношение их (белки, липиды, их фракции, фосфолипиды, ганглиозиды, холестерин) в разрушенной мембране жировой глобулы имеют существенное физиологическое значение, важно в профилактике заболеваний ребенка [47], что признается важным элементом оптимизации его молочного вскармливания, предложено для включения в состав современных молочных смесей [48].

В полостях желудка и тонкой кишки совершается индуцированный аутолиз липидов молока его липазой (содержание основной липазы молока липопротеинлипазы 4-20 мг/мл), в роли индукторов и участников липолиза выступают слюнная и желудочные липазы, активность которых не зависит от солей желчных кислот. В тонкой кишке в липолизе липидов молока участвует и желчезависимая панкреатическая липаза [16]. В результате гидролиза триглицеридов молока слюнной и желудочной липазами образуются в основном диглицериды и жирные кислоты, под влиянием панкреатической липазы – глицерин и жирные кислоты [29]. Следовательно, гидролиз липидов молока совершается несколькими липазами по типу аутолитического и собственного внутриполосного пищеварения в желудке и тонкой кишке в широком диапазоне pH (5,2-9,8) [16].

Примечательно, что липолитическая активность молока по месяцам лактации существенно не снижается, а если в первый месяц лактации зрелое молоко имело низкую липолитическую активность, то в последующие месяцы (даже до 12-го месяца нарастает, особенно в первые 4-6 месяцев лактации) [49, 50]. Значимость данного явления в обеспечении ребенка продуктами липолиза велика, так как экзосекреция поджелудочной железы в первые месяцы и годы ребенка низкая, а тонкокишечный пристеночный гидролиз пептидов негидролизованными триглицеридами тормозится [44, 51]. Переднее молоко (молоко в начале грудного кормления) имеет низкое содержание липидов, заднее (молоко в завершении кормления) очень высокую липолитическую активность, что иногда учитывается в процессе кормления ребенка. Молоко содержит несколько эстераз, принимающих участие в аутолиполизе [52].

Основным углеводом молока является дисахарид лактоза. Ее содержание в зрелом молоке относительно стабильное (73-75 г/л) и выше, чем в молозиве (41-73 г/л). Лактоза представлена в грудном молоке в основном в бета-форме. Она не успевает полностью гидролизоваться в тонкой кишке, достигает толстой кишки, где используется ее микробиотой. Энергетическая значимость лактозы невелика, но полагают пластическую важность ее для многих орга-

нов младенцев, особенно для формирования скелета, так как лактоза стимулирует кишечное всасывание кальция [29]. Лактоза осмотически достаточно активна и важна в кишечном транспорте воды и электролитов.

У плода человека лактазная активность слизистой оболочки тонкой кишки обнаруживается на третьем месяце внутриутробного развития [41] и составляет 70% таковой у новорожденного ребенка. Далее нарастает вплоть до перехода ребенка на дефинитивное питание, при котором индуцируется сахаразная активность слизистой оболочки тонкой кишки, при синхронном снижении ее лактазной активности. Тем не менее, у здорового взрослого человека она достаточно велика [20, 43], имея характерные генетические особенности – непереносимость молока из-за низкого содержания или отсутствия в слизистой тонкой кишки лактазы ряда народов Восточной, Юго-Восточной Азии и Африки [43]. Этому вопросу посвящено огромное число исследований и соответствующая литература. Лактоза гидролизуется дисахаридазой лактазой по принципу тонкокишечного пристеночного пищеварения, а в грудном молоке лактаза не содержится и, следовательно, не возможен аутолитический тип дигестии лактозы молока.

С другой стороны, оно в норме не содержит полисахаридов типа крахмала и гликогена, обладает амилолитической активностью. Этот физиологический феномен долгое время не имел объяснения. В настоящее время принято, что амилолитическая активность грудного молока важна с началом прикорма ребенка, так как питательные смеси содержат гидролизуемые α-амилазой полисахариды и олисахариды, а данного фермента еще недостаточно секретируется слюнными и поджелудочной железами для гидролиза этих углеводов в полостях желудка и тонкой кишки младенца [3]. При этом амилаза молока имеет оптимум pH 4,5–7,5, относительно устойчива при pH 3, что сохраняет ее активность в желудочном пищеварении и от деградации амилазы пепсином сдерживается белками молока [16].

Амилолитическая активность максимальная у молозива и зрелого молока в три начальных месяца лактации, затем снижается до 25% от начальной величины, но если у лактирующих женщин амилолитическая активность молока низка в первый месяц лактации, то в последующие месяцы она нарастает [50].

Белки и протеазы грудного молока

Зрелое молоко женщины имеет низкое содержание белков – 12-14 г/л, а молозиво – 80-110 г/л. В течение лактационного периода содержание белка в молоке постепенно снижается в соответствии с интенсивностью роста ребенка. Основными белками являются: казеины, лактальбулины, лактоглобулины. Среднее содержание (г/л) казеинов (α, β, κ) в зрелом молоке 2,7; α-лактоглобулина – 3,4; иммуноглобулинов (IgG, IgA) – 0,3-1,8; лактотрофина – 0,1. Одни из них играют роль уникальных 100-процентной биодоступности макронутриентов, другие многоцелевую защитную роль (как иммуномодуляторы и факторы антимикробной защиты); третьи – роль гормонов и факторов роста, четвертые – различных ферментов, в том числе гидролитических, в деградации полимерных нутриентов молока. Этому протеолитическому свойству молока в последние годы уделяется особое внимание, хотя еще не

так давно считалось, что протеиназы молока функционально малозначимы, так как молоко содержит не только несколько протеиназ, но и их антагонистов в виде антипротеаз и ингибиторов протеиназ [10]. Действительно, в грудном молоке содержится несколько систем протеолитических зимогенов, активных энзимов, их активаторов, ингибиторов и антиэнзимов (рис. 13) [26]. Данные литературы по этой биохимической проблеме не всегда однозначны и составляют предмет продолжающихся исследований и дискуссий.

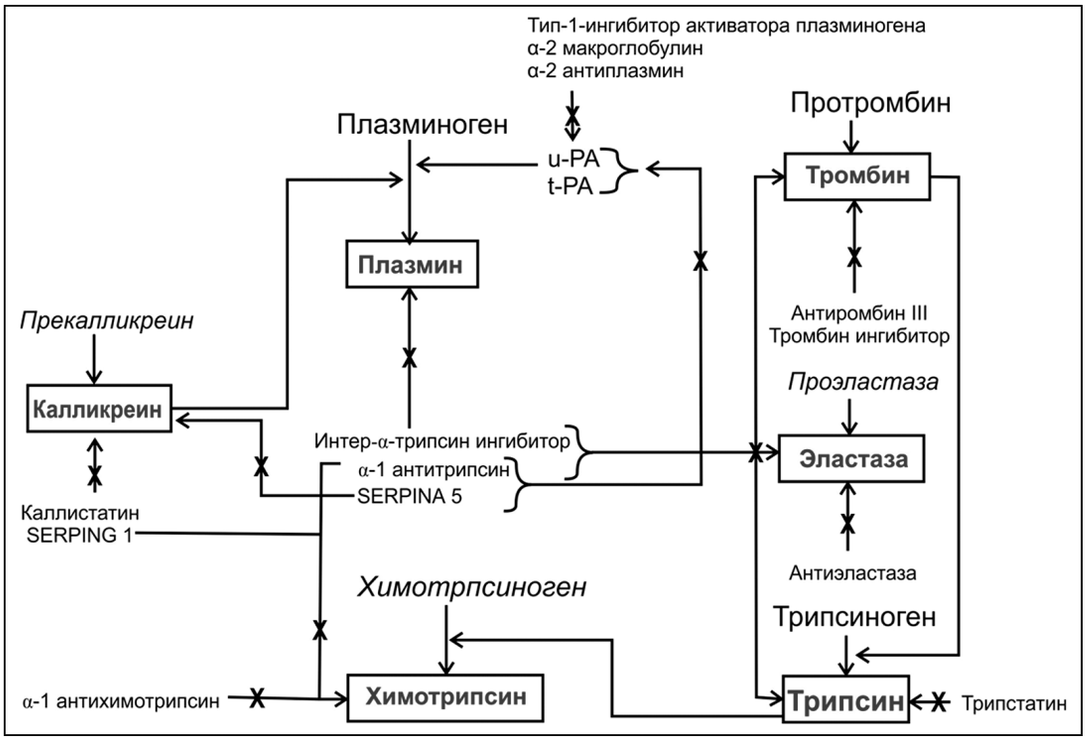

Fig. 13
System of breast milk proteases
Note:
u-PA – plasminogene activator of urokinase type;
t-PA – plasminogene activator of tissue type

Рисунок 13. Система протеаз грудного молока [26]
Примечание: u-PA - активатор плазминогена урокиназного типа;
t-PA - активатор плазминогена тканевого типа.

Немаловажно и то, что многие белки и пептидные продукты их гидролиза, и каждый из них мультипотентны. Поэтому мы постараемся сделать акцент на протеолиз в лактотрофии и функциональную роль в нем образовавшихся в протеолизе пептидов.

Протеиназ несколько, в которых следует выделить пепсиноподобные и трипсиноподобные, соответственно действующие при кислых значениях pH среды в желудке и при основных (слабощелочных) значениях pH в тонкой кишке. Содержание в молоке пепсиногенов и трипсиногенов по месяцам лактации снижается. Но по нашим данным, если у женщин в первый месяц лактации их содержание в молоке низкое, то в последующие месяцы оно на-

растает. Данное явление более выражено по трипсиногену, чем по пепсиногену [50]. Механизм данного установленного нами явления пока не известен, но назначение его, несомненно, адаптационно-компенсаторное в оптимизации гидролиза белков грудного молока в пищеварительном тракте ребенка. Оно свойственно не только протеолизу, но и липолизу и амилолизу, то есть является присущей лактотрофии закономерностью.

Молоко содержит плазмин, анионный трипсин (или трипсин 2), анионную эластазу (или нейтрофильная эластаза), катепсины D и B, тромбин, карбокси- и аминопептидазы [26, 53, 54, 55]. Большинство протеаз поступают в состав молока в зимогенной форме и активируются путем ограниченного протеолиза, другие протеазы исходно активны; одни белки молока гидролизуются, другие – нет, что сохраняет их функциональную значимость (лактоферрин, иммуноглобулины и др.). Остановимся на основных протеолитических системах грудного молока.

Основной такой системой названа система плазмина. Она включает в себя плазминоген, плазмин, активаторы и ингибиторы (рис. 13). В роли активаторов выступают две сериновые протеазы – урокиназного и тканевого типов. Ингибиторами служат: ингибитор активатора плазмопепсиногена типа 1, α-трипсин ингибитор, SERDINA1, SERDINA 5, α2-макроглобулин, α2-антиплазмин.

Активность плазмина важна в гидролизе белков молока (особенно β-казеина) и лизисе тканей железы при их инволюции. Казеины ускоряют активацию плазминогена. Иммуноглобулин А и лактотрофин не гидролизуются плазмином, так как они не ассоциированы с мицеллами казеина, имеют глобулярную структуру и дисульфидные связи.

Катепсиновая система грудного молока имеет катепсины B, D, H, S, L, G. Они действуют в лизосоме при кислом pH. Протеолиз одни из них производят как сериновые, другие как аспарагиновые, третьи – как цистеиновые протеиназы.

Эластазная система и система трипсина грудного молока исследованы недостаточно. Последняя, по-видимому, в полной мере реализуется как протеаза в тонкой кишке ребенка, обе системы в грудном молоке имеют несколько ингибиторов. В еще меньшей мере понятно назначение системы химотрипсина, имеющая в грудном молоке невысокую активность и наличие ингибитора. Еще одна почти загадочная система тромбина, более выраженная в молозиве. Антитромбиновая способность молока считается установленной. Тромбин может выполнять роль активатора зимогенных протеаз. Пишется о наличии в грудном молоке двух калликреинов, предполагаются их зимогенная и активная формы, несколько ингибиторов протеаз активны в подавлении активности данной протеазы.

В грудном молоке идентифицированы пептидазы: цитозольаминопептидаза, карбоксипептидаза B2, которая активируется тромбином, глутамат-карбоксипептидаза 2. Им отводится роль протеолиза в молочных железах. В женском молоке содержатся матричные металлопротеиназы (или коллагеназы), которые производят деградацию белков внеклеточного матрикса и ремоделирование тканей. Описаны «желатиназы» и их ингибиторы.

В гидролизе разных белков молока разные протеиназы проявляют свою активность в неодинаковой мере – наиболее эффективен плазмин в гидролизе β-казеина и остеопонтина (рис. 14).

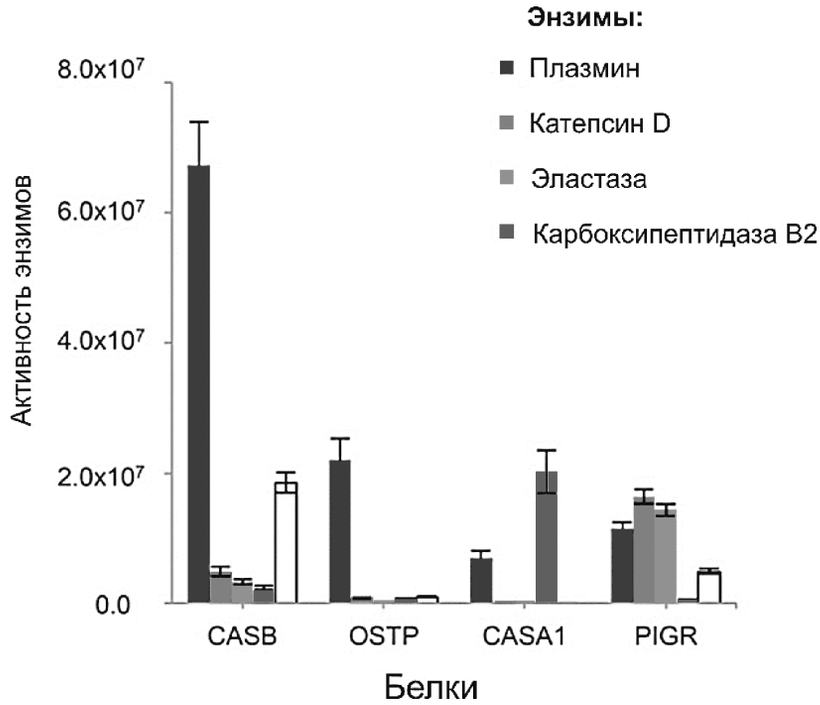

Fig. 14
Endogen degradation of proteins by different enzymes
Note:
CASA1 – casein,
CASB – casein;
OSTP – osteopontin,
PIGR – polymer immunoglobuline receptor

Рисунок 14. Эндогенная деградация белков разными энзимами [56]
Примечание: CASA1 – α-казеин; CASB – ß-казеин; OSTP – остеопонтин; PIGR – полимерный иммуноглобулиновый рецептор.

Гидролазы грудного молока по срокам лактации – динамичный потенциал аутолитического пищеварения

Мы исследовали содержание гидролитических ферментов в грудном молоке на протяжение длительной лактации у группы здоровых женщин с нормальными сроками гестации (62 человека). Методы определения ферментов. Трипсиноген и ингибитор трипсина – модифицированный метод Эрлангера [57], субстрат – бензол-D1-аргининпаранитроанилид. Пепсиноген – модифицированный метод B.J. Hirschowitz [58], субстрат – сухая плазма крови. Амилаза – модифицированный амилокластический метод [59], субстрат – растворимый крахмал. Липаза – модифицированный трибутиразный метод [60].

По нашим данным, содержание пепсиногена, трипсиногена и ингибитора трипсина в молозиве существенно выше, чем в молозивном, переходном и, тем более, в зрелом молоке (табл. 4, 5); с возрастом женщин (от 19 до 40 лет) содержание трипсиногена (но не других гидролаз) в молоке становится существенно ниже, в первый месяц лактации и в последующие месяцы снижается более круто. От месяца к месяцу на протяжении годового срока лактации (табл. 5, 6) происходит снижение содержания гидролаз в молоке, но если в первый ее

месяц содержание гидролаз в молоке низкое, то в последующие 2-6 месяцы оно повышается. Для разных гидролаз и зимогенов (амилаза, липаза, пепсиноген, трипсиноген) такая динамика по срокам лактации различная, (рис. 15-19), а для содержания ингибитора трипсина не характерна (рис. 18).

Таблица 5

Содержание ферментов в молозиве родильниц в первую неделю лактации (n=20, M ± m) [34]:

Table 5
Enzyme content in foremilk during the first week of lactation

Дни лактации	Пепсиноген (тир. ед./мл)	Трипсиноген (миллиед./мл)	Ингибитор трипсина (миллиед./мл)
1	51,6 ± 6,4	4,0 ± 1,2	2,9 ± 0,7
3	45,7 ± 4,1	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,6
6	31,6 ± 2,7	1,3 ± 0,3	1,5 ± 0,5

Таблица 6

Ферментативная активность грудного молока в зависимости от срока лактации женщин (n =62; M ± m) [34]

Table 6
Enzymatic activity of breast milk against period of lactation

Месяцы	Пепсиноген (тир. ед./мл)	Амилаза (ед./мл)	Липаза (ед./мл)
1	21,0 ± 1,2	98,1 ± 6,5	3,4 ± 0,2
2	19,2 ± 1,2	86,1 ± 5,1	3,4 ± 0,2
3	18,6 ± 1,0	83,4 ± 4,1	3,4 ± 0,2
4	24,3 ± 1,5	70,9 ± 5,5	3,0 ± 0,2
5	19,4 ± 1,3	62,4 ±3,1	4,1 ± 0,2
6	18,8 ± 0,9	62,3 ± 3,1	4,1 ± 0,2
7	20,7 ± 1,2	62,1 ±2,9	3,3 ± 0,2
8	18,0 ± 0,8	54,8 ± 3,1	3,3 ± 0,1
9	15,0 ± 0,7	55,6 ± 3,6	3,3 ± 0,1
10	10,0 ± 0,5	45,2 ± 2,6	3,2 ± 0,1
11	10,7 ± 0,6	39,8 ± 2,6	3,0 ± 0,1
12	7,8 ± 0,8	26,1 ± 0,5	2,4 ± 0,1

Таблица 7

Содержание трипсиногена (миллиед./мл) в грудном молоке в 1-5 месяцы лактации 62 женщин разного возраста (M ± m) [3]

Table 7
Tripsinogen content (milli-unit\ml) in breast milk during 1–5 months of lactation of 62 women of different age.

Месяцы лактации	19–25 лет	26–30 лет	31–40 лет
1	9,3 ± 1,6	7,0 ± 2,9	4,9 ± 2,3
2	6,9 ± 1,3	5,5 ± 1,4	4,1 ± 1,3
3	5,3 ± 0,9	4,0 ± 1,3	2,1 ± 1,2
4	4,4 ± 0,6	2,5 ± 2,1	1,3 ± 1,0
5	2,4 ± 0,6	1,4 ± 0,7	0,4 ± 0,3

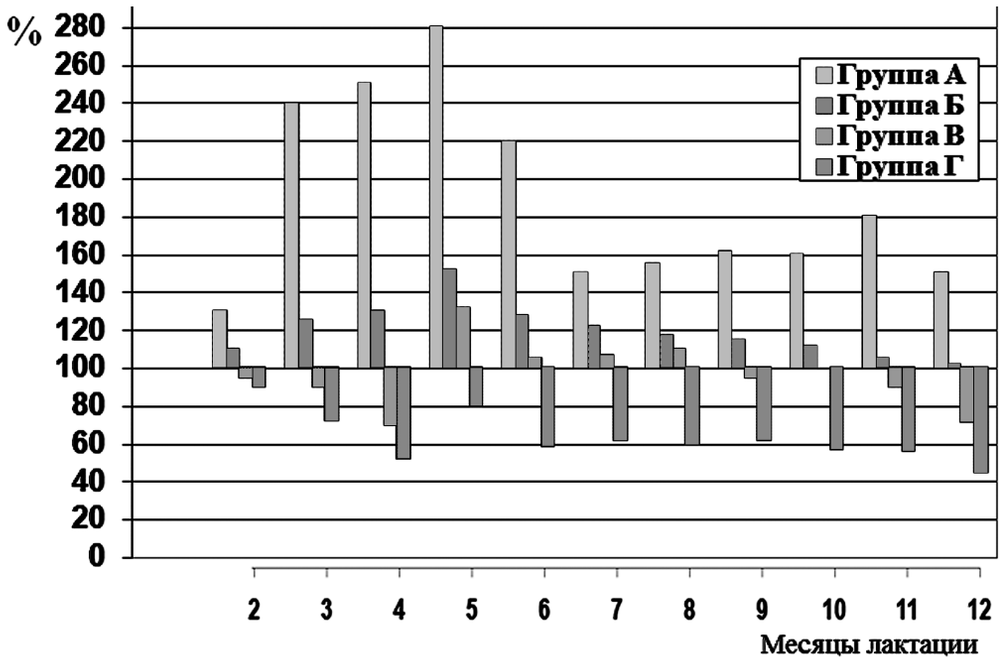

Fig. 15
Lipase content in milk of four groups (A, Á, Â, Ã) of women according to months of lactation (in % to the first month)
Note:
lipase content in the first month milk in groups:
A – 14 women; up to 60 unit\ml,
Á – 20 women; 100 unit\ml,
Â – 22 women; 101–180 unit\ml,
Ã – 6 women; 181 and more unit\ml

Рисунок 15. Содержание липазы в молоке четырех групп (А, Б, В, Г) женщин по месяцам лактации (в %% к первому месяцу):
Примечание: содержание липазы в молоке первого месяца лактации по группам: А – 14 чел.; до–60 ед./мл. Б – 20 чел.; 61–100 ед./мл. В – 22 чел.; 101–180 ед./мл. Г – 6 чел.; 181 и выше ед./мл

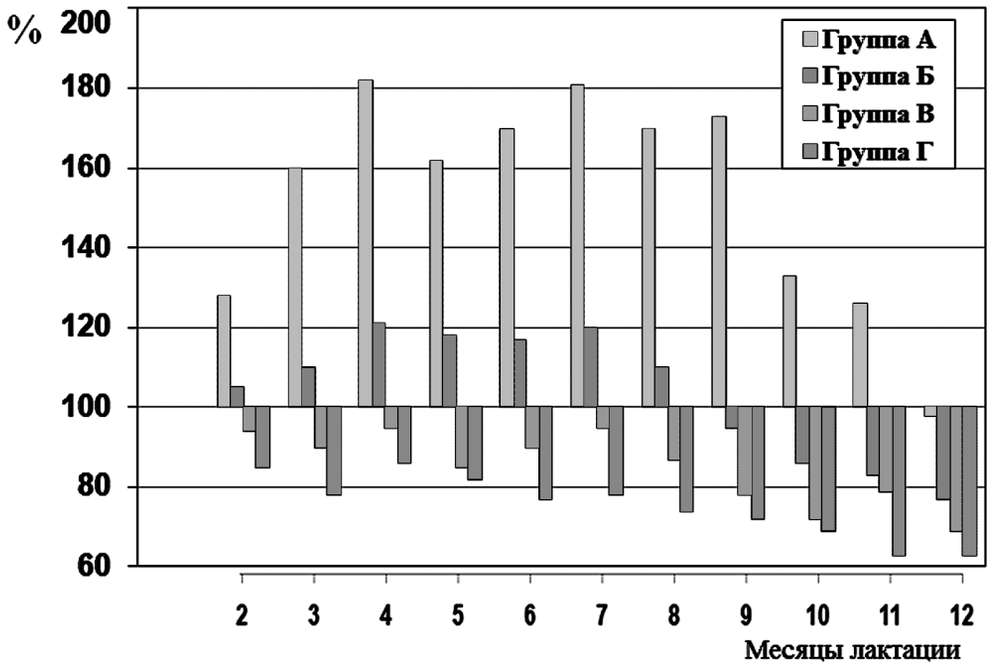

Fig. 16
Dynamics of pepsinogen content in milk of four groups (A, Á, Â, Ã) of women according to months of lactation (in % to the first month)
Note:
lipase content in the first month milk in groups:
A – 8 women; up to 10 \ml,
Á – 23 women; 11–20\ml,
Â – 20 women; 21–30 \ml,
Ã – 11 women; 31 and more unit\ml

Рисунок 16. Динамика содержания пепсиногена в молоке четырех групп (А, Б, В, Г) женщин по месяцам лактации (в %% к первому месяцу):
Примечание: содержание липазы в молоке первого месяца лактации по группам: А – 8 чел.; до 10 тир. ед./мл. Б – 23 чел.; 11–20 тир. ед./мл. В – 20 чел.; 21–30 тир. ед./мл. Г – 11 чел.; 31 и выше тир. ед./мл.

Fig. 17.
Dynamics of tripsinogen content in milk of four groups (A, Á, Â, Ã) of women according to months of lactation (in % to the first month)
Note:
tripsinogen content in the first month milk in groups:
A – 21 women; up to 1,0\ml,
Á – 83 women; 1,1–5,0\ml,
Â – 19 women; 5,1–15 \ml,
Ã – 12 women; 16 and more unit\ml.
In A group maximum increased content of tripsinogen in the fourth month of lactation is 0.6 milli-units\ml

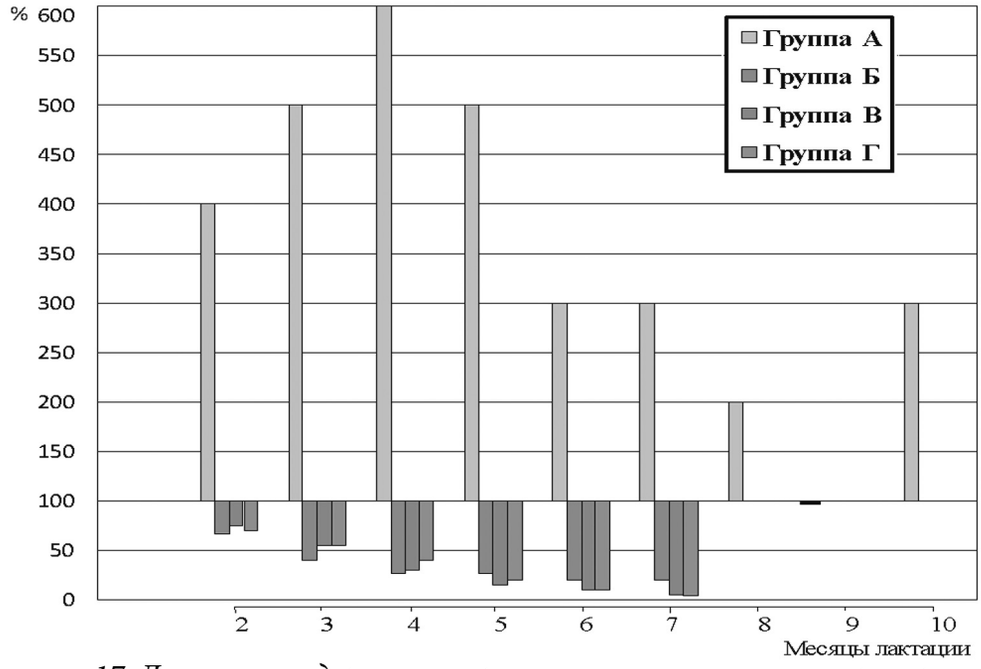

Рисунок 17. Динамика содержания трипсиногена в молоке четырех групп (А, Б, В, Г) женщин по месяцам лактации (в %% к первому месяцу):
Примечание: содержание трипсиногена в молоке первого месяца лактации по группам: А – 21 чел., до 1,0 мед/мл; Б – 8 чел., от 1,1 до 5,0 мед/мл; В – 19 чел., от 5,1 до 15 мед/мл; Г – 12 чел., от 16 и выше мед/мл. по группе А максимально возросшее содержание трипсиногена в четвертый месяц лактации составило всего 0,6 миллиед./мл.

Fig. 18
Dynamics of tripsinogen inhibitor content in milk of four groups (A, Á, Â, Ã) of women according to months of lactation (in % to the first month)
Note:
tripsinogen content in the first month milk in groups:
A – 21 women; up to 1,0\ml,
Á – 83 women; 1,1–2,0\ml,
Â – 19 women; 2,1–12\ml,
Ã – 12 women; 13–20 unit\ml.

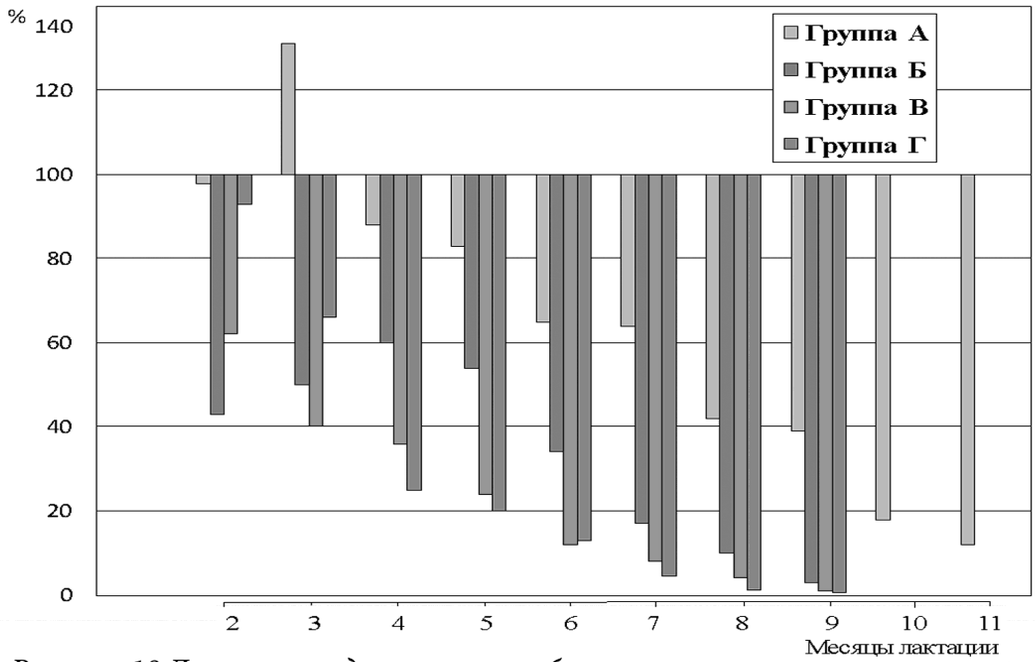

Рисунок 18 Динамика содержания ингибитора трипсина в молоке четырех групп(А, Б, В, Г) женщин по месяцам лактации (в %% к первому месяцу):
Примечание: содержание трипсиногена в молоке первого месяца лактации по группам: А – 21 чел., до 1,0 мед/мл; Б – 8 чел., от 1,1 до 2,0 мед/мл; В – 19 чел., от 2,1 до 12 мед/мл; Г – 12 чел., от 13 до 20мед/мл.

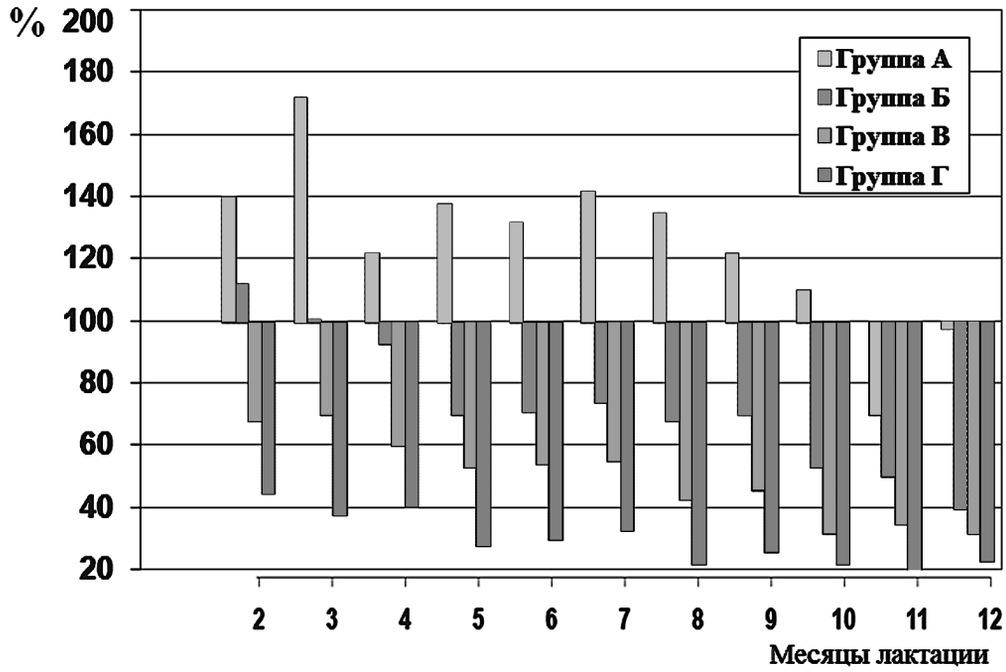

Fig. 19
Amylase content in milk of four groups (A, Á, Â, Ã) of women according to months of lactation (in % to the first month)
Note:
lipase content in the first month milk in groups:
A – 10 women; up to 2,0 unit\ml,
Á – 18 women; 2,1–3,0 unit\ml,
Â – 18 women; 3,1–4,0 unit\ml,
Ã – 16 women; 4,1 and more unit\ml

Рисунок 19. Содержание амилазы в молоке у четырех групп (А, Б, В, Г) женщин по месяцам лактации (в %% к первому месяцу):
Примечание: содержание липазы в молоке первого месяца лактации по группам: А – 10 чел.; до 2,0 ед./мл. Б – 18 чел.; 2,1–3,0 ед./мл. В – 18 чел.; 3,1–4,0 ед./мл. Г – 16 чел.; 4,1 и выше ед./мл.

Компенсаторное назначение данного установленного нами физиологического явления, его рациональность в аутолитической дигестии нутриентов несомненно, но механизм саморегуляции ферментных свойств грудного молока в динамике лактации пока не известен и требует специального исследования.

На память приходят результаты исследования ферментовыделительной деятельности поджелудочной железы и роль в ней возвратного (обратного) торможения, регулируемого в двух контурах саморегуляции: гемато-гландулярном, когда повышение концентрации гидролаз в крови тормозит их секрецию поджелудочной железой (это моделируется и в экспериментах In vitro, в которых секреция гидролаз изолированной железой снижается повышением их концентрации в инкубационном растворе [34, 62, 63]). Вторым контуром является торможение панкреатического ферментовыделения при повышении концентрации панкреатических гидролаз в дуоденальном химусе. Данному контуру принадлежит ведущая роль в срочной адаптации панкреатической секреции гидролаз к нутриентно-ферментной композиции дуоденального химуса [61, 62]. В названных двух контурах саморегуляции (особенно во втором контуре) нами открыты два вида возвратного торможения: селективное и генерализованное. Первое состоит в избирательном торможении секреции именно того фермента, концентрация которого была повышена в содержимом двенадцатиперстной кишки. Второй вид торможения состоит в снижении секреции поджелудочной железой всех гидролаз, гидрокарбонатов и умень-

шении объема секреции. Первый вид торможения наблюдается при небольшом (пороговом и слабо надпороговом) повышении концентрации того или иного фермента в дуоденальном содержимом, второй вид торможения – генерализованное состоит в снижении секреции всех ингредиентов секрета и происходит в ответ на значительное повышение концентрации в дуоденальном содержимом даже одного из панкреатических ферментов.

В описанной и иллюстрированной рисунками 15–19 феноменологии лактационной динамики содержания ферментов, их зимогенов (пепсиногена и трипсиногена) и ингибитора трипсина в грудном молоке кормящих матерей при начальном высоком содержании в молоке в первый месяц лактации одного из ферментов в последующие месяцы оно снижалось. Не возвратное ли это торможение секреции ферментов молочными железами? При исходно низком содержании фермента этого не происходило и в большинстве наблюдений концентрация фермента в молоке на какой-то срок повышалась. Особенно ярко эта закономерность проявилась при исходно низком содержании в молоке трипсиногена у достаточно большого числа лактирующих женщин (рис. 17). Наименее выражена данная закономерность была в динамике содержания в молоке ингибитора трипсина (рис. 18). Повышения содержания ингибитора трипсина в молоке группы женщин с исходно наиболее низкими показателями ингибитора не было. Но и для этого ферментного компонента молока, как и других четырех гидролаз и зимогенов, было характерно достижение тем более низких показателей в динамике лактации, чем они были выше в первый месяц (рис. 1–5). Нам представляется важным исследование механизма повышения содержания гидролаз в грудном молоке при начально (в первый месяц лактации) низком уровне данного показателя, а также обратный эффект. Положительное назначение данного физиологического явления в дигестии нутриентов молока не вызывает сомнений.

Кооперация аутолитического и собственного пищеварения в лактотрофии

Быстрое снижение ферментативной активности молока может стать причиной дигестивной недостаточности лактотрофии, которая должна компенсироваться собственным пищеварением, то есть усилением секреторной деятельностью пищеварительных желез грудного ребенка. С другой стороны, ее усиление в ходе индивидуального развития младенца может быть причиной снижения содержания гидролаз в грудном молоке кормящей матери. И, следовательно, темп снижения ферментативной активности молока, помесячная крутизна этого процесса зависят от темпа нарастания секреторной ферментовыделительной деятельности пищеварительных желез ребенка первых месяцев жизни. Так это или не так, что причина и что следствие, требует специального исследования. Мы надеемся, что наша публикация будет способствовать такому научному поиску, значимость которого нам представляется не только теоретически, но и практически актуальной.

Итак, грудное молоко содержит ферменты для гидролиза основных нутриентов – липидов, углеводов и белков, соответственно, липаз, карбогидраз и протеаз. Ранее и более других гидролаз педиатров заинтересовала липоли-

тическая активность молока [6, 7, 8, 10, 15]. Это можно объяснить высоким содержанием в молоке липидов (28–57 г/л), их полипотентностью – ролью как энергетических и пластических компонентов молока, его антибактериальных и антимикозных веществ [15, 19, 64]. Немаловажно и то, что у младенцев, вскармливаемых молоком с низким содержанием липидов, отмечены многие функциональные нарушения [11–14]. Важен аутолиполиз еще и потому, что он происходит у детей при низкой липолитической активности полостного содержимого пищеварительного тракта младенцев. Интересно и то, что липолитическая активность молока сохраняется в достаточно поздние сроки лактации (табл. 5, рис. 15), то есть снижается медленнее других ферментативных активностей, а в составе дигестивного потенциала плода система липолиза начинает формироваться ранее других ферментных систем, будучи достаточно выраженной у недоношенных детей [34].

Аутолизис липидов молока его липазой в полости желудка и тонкой кишки в широком диапазоне pH среды (5,2–9,8), требует индукции данного процесса лингвальной и гастральной липазами в липидной глобуле, куда они проникают из-за их гидрофобности [16, 22]. При этом в результате гидролиза триглицеридов образуются в основном диглицериды и жирные кислоты, панкреатическая липаза образует моноглицериды и жирные кислоты, липаза молока – жирные кислоты и глицерол [21].

При невысокой концентрации белков в молоке (10–17г/л), сложен белковый и пептидный состав молока, наличие в нем нескольких протеаз и их зимогенов, полипотентность данных компонентов, существенные индивидуальные (и видовые) различия их содержания, наиболее крутая убыль потенциальной триптической активности в молоке по месяцам лактации (табл. 6, рис. 17). Последнее свидетельствует о замещении дигестивной роли протеаз молока (аутопротеолиза) протеазами пищеварительного тракта грудных детей.

Только в первый месяц лактации содержание в молоке пепсиногена и трипсиногена имело выраженную обратную зависимость (r=-0,99), в последующие месяцы содержание в молоке двух зимогенов не имело даже малой взаимозависимости. Содержание трипсиногена и ингибитора трипсина в молоке связано выраженной, но прямой зависимостью (r=0,97–0,82), на протяжение первых двух месяцев лактации содержание в молоке трипсиногена и ингибитора трипсина выше у перворожавших, чем повторно рожавших, при этом вторая группа женщин была по возрасту старше и, как отмечено выше, имела более низкое содержание в молоке трипсиногена.

Своего рода «бум» в протеиномике и пептидомике произошел благодаря аналитической химии пептидов, использования в ней геномики, вычислительной биологии, клинической и экспериментальной медицины [25]. Многочисленные работы данного направления установили в составе грудного молока несколько протеаз, зимогенов, активаторов и ингибиторов протеаз, несколько протеолитических систем, включая плазмин, катепсин, эластазу, калликреин, пепсин, трипсин, химотрипсин, амино- и карбоксипептидазные системы [26]. Выявлены в составе молока сотни пептидов, некоторые из которых физиологически активны, функционально значимы для вскармливаемых младенцев и молочных желез кормящей матери [26].

В одной из ранних междисциплинарных публикаций (2014 год) большой группы ученых США и Ирландии [25] представлены результаты исследования аутопротеолиза интактного грудного молока и желудочного аспирата того же молока после его двухчасовой инкубации в желудке новорожденных младенцев в возрасте 4–12 дней. На основании масс-спектрометрического анализа и специальных программ идентификации пептидных фрагментов в молоке и аспирате было идентифицировано 7 ферментов или их аналогов, количественно определены их гидролизаты (рис. 20).

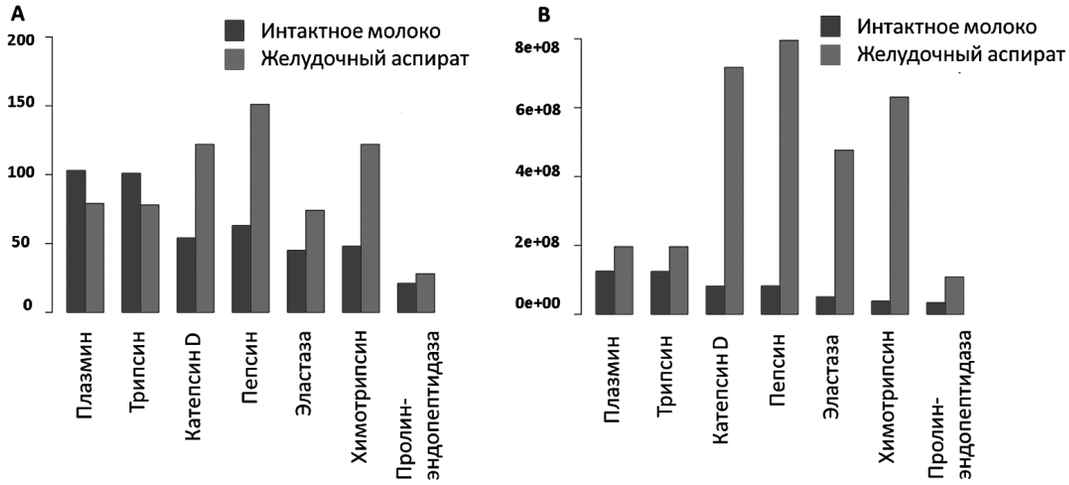

Fig. 20
Comparison of enzyme activity in intact milk and its gastric aspirates of newborn
(A) diagram of total peptide breakdowns in intact milk and its gastric aspirates of newborn. Enzymes that take part in protein digestion are shown on the axe X, total numbers of decays that occur in terminal part are shown on the axe Y.
(B) Diagram of unique peptides number associated to enzyme activity multiplied to corresponding quantity of peptides (ions count). Enzymes that take part in protein digestion are shown on the axe X, sum of peptide fragments are shown on the axe Y.

Рисунок 20. Сравнение активности ферментов интактного молока и его желудочных аспиратов младенцев [25]:
(A) диаграмма общего числа пептидных распадов белка в интактном молоке и его желудочных аспиратах младенцев. Ферменты, участвующие в переваривании белков, представлены на оси X, общее число распадов, встречающихся в терминальном отделе, указано на оси Y. (B) Диаграмма ряда уникальных пептидов, ассоциированных с действием фермента, умноженных на соответствующее количество пептидов (счет ионов). Ферменты, участвующие в переваривании белков, указаны на оси X, сумма пептидных фрагментов указана на оси Y.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что по большинству протеаз пребывание молока в желудке существенно увеличило количество гидролизатов, по некоторым гидролазам более, чем в два раза (химотрипсин, пепсин, катепсин D). Это свидетельство и результат взаимодействия протеаз молока и экзосекретов пищеварительной системы новорожденных, то есть кооперации аутолитического и собственного протеолиза (пищеварения). Авторы заключили, что «каждый фермент, найденный в содержимом желудка, обнаружен и в молоке человека» и завершили публикацию призывом к более полной характеристике ферментного профиля молока человека и содержимого желудка.

Нельзя не согласиться с авторами работы в том, что методика их исследования с применением назогастрального зондового введения и извлечения ма-

теринского молока из желудка неадекватна естественному его приему и при ней исключено участие ферментов слюны и ротовой жидкости в гидролизе нутриентов молока. А как сказано выше, ферменты слюны и ротовой жидкости младенцев важны в желудочном липолизе и протеолизе соответствующих нутриентов материнского молока в желудке. Так, нами показано, что воздействие слюны на пищевой белок повышает его «атакуемость», то есть последующую гидролизуемость белков пепсином и трипсином [22]. К тому же, фетальные протеазы новорожденного ребенка по субстратной специфичности и оптимуму pH отличаются от протеаз взрослого человека [34].

В другой публикации [26] того же года в другом журнале, но с участием тех же авторов в исследовании молока трех женщин и их новорожденных в возрасте до 12 дней, в желудке которых два часа инкубировалось грудное материнское молоко, произведен анализ пептидов молока и в его желудочном аспирате. Выполнена пептидологическая интерпретация с акцентом на вид 36 гидролизуемых в желудке белков молока и образуемых при этом пептидов. Большинство пептидов (59%) произошли в результате гидролиза β-казеина. Остальное количество пептидов – в результате гидролиза других казеинов, сывороточного альбумина, лактоферрина, α-лактоальбумина и др. Конечно, в желудочном аспирате пептидов было значительно больше ($p<0,05$), чем в нативном молоке. 98 пептидов в молоке и 205 в желудочном аспирате частично или полностью соответствовали известным по фармакологическим и функциональным свойствам пептидам.

По заключению авторов, протеолиз молока начинается еще в молочных железах во время лактации, далее интенсивно идет в желудке и тонкой кишке младенцев. Авторы настоятельно утверждают, что грудное молоко эволюционно не только продукт питания, но и регулирующий многие жизненно важные отправления фактор [26, 30, 52, 65, 66]. Специальной серией работ установлено, что недоношенность разных сроков на содержание в молоке протеаз и пептидов на протяжении всего периода лактации существенно не влияет [30, 54].

На приведенном рисунке 20 светлые столбцы характеризуют суммарный гидролитический эффект протеаз молока и содержимого желудка. Последнее представлено протеазами желудочного, поджелудочного и рефлюксированного тонкокишечного секретов, то есть аутолитического и собственного протеолитического пищеварения, которое входит в состав стартового дигестивного потенциала новорожденного. Надо полагать, что продемонстрированные зарубежными коллегами успехи пептидомики в характеристике гидролиза белков грудного молока новорожденными детьми найдут предложение в аналогичной характеристике липолиза принципиально аналогичным методическим приемом. Это расширит представления о технологии полисубстратного пищеварения новорожденных.

По утверждению авторов данного исследования, аутопротеолиз начинается уже в молочной железе, в ее системе транспорта молока, его же протеазами и затем продолжается в пищеварительном тракте ребенка протеолитическими ферментами пищеварительных желез (слюнных, поджелудочной и эпителиоциоцитов тонкой кишки).

Углеводом молока, требующим для своего усвоения предварительного ферментного гидролиза, является дисахарид лактоза. Ее содержание в зрелом молоке относительно стабильно (59–76 г/л), ниже в молозиве (20–30г/л) и представлено в основном бета-формой. Гидролиз лактозы производится кишечной лактазой по типу собственного пристеночного пищеварения, при этом образуются всасываемые мономеры – галактоза и глюкоза. Лактазная активность тонкой кишки плода нарастает к концу беременности и велика у ребенка в ранние сроки молочного вскармливания, постепенно снижаясь к завершению его и стабилизируется у взрослого человека, у которого индуцируется высокая тонкокишечная сахаразная активность. В грудном молоке лактаза в норме практически не содержится.

Наличие в молоке α-амилазы рассматривается как участник гидролиза полисахаридов (крахмала) прикорма и основных питательных смесей при смешанном вскармливании, а в грудном молоке полисахаридов как гидролизуемого амилазой субстрата не содержится.

Амилаза молока имеет оптимум pH 4,5–7,5, относительно устойчива при pH 3, что сохраняет ее активность в желудочном пищеварении, а от гидролиза амилазы пепсином сдерживается белками молока [6].

Амилолитическая активность максимальна у молозива, велика и у зрелого молока ранних сроков лактации, в конце года ее снижается до 25% от величины в первый месяц лактации [3, 61]. Отмечена описанная выше закономерность: если в первый месяц лактации амилолитическая активность низкая, то она в последующие месяцы (вплоть до 10-го) нарастает (рис. 19). У большинства женщин от месяца к месяцу амилолитическая активность снижается и чем она начально была выше, тем круче помесячное ее снижение (рис. 19).

Механизмы формирования гидролазного компонента грудного молока

Молоко и составляющие его ингредиенты образуются молочными железами посредством нескольких целлюлярных механизмов: синтез и экзоцитоз лактоцитами сектреторных продуктов – макро- и микронутриентов молока, биологически активных веществ, в их числе гормонов и ферментов; двусторонний апикальный транспорт воды и электролитов; трансцитоз (базолатеральный и апикальный, эндо- и экзо-) многих веществ, в том числе гормонов и ферментов; двусторонний парацеллюлярный (межклеточный) транспорт [67] (рис. 21).

В соответствии с названными механизмами образования молока, постулируется несколько механизмов происхождения гидролаз в молоке. Во-первых, синтез гидролаз секреторным эпителием молочных желез – лактоцитами, их альвеол; во-вторых, лейкопедез лейкоцитов, содержащих многие гидролазы; в-третьих, рекреция путем везикулярного трансцитоза гидролаз и их зимогенов лактоцитами из крови лактирующих женщин [68], что показано как универсальный механизм транспорта в деятельности разного типа гландулоцитов пищеварительных желез [69]; в-четвертых, парацеллюлярный транспорт из крови в состав молока при недостаточности межклеточных контактов, например, в первые несколько суток лактации при секреции молозива и переходного молока, нарушении этих контактов при мастите [67]. Посредством трансцитоза

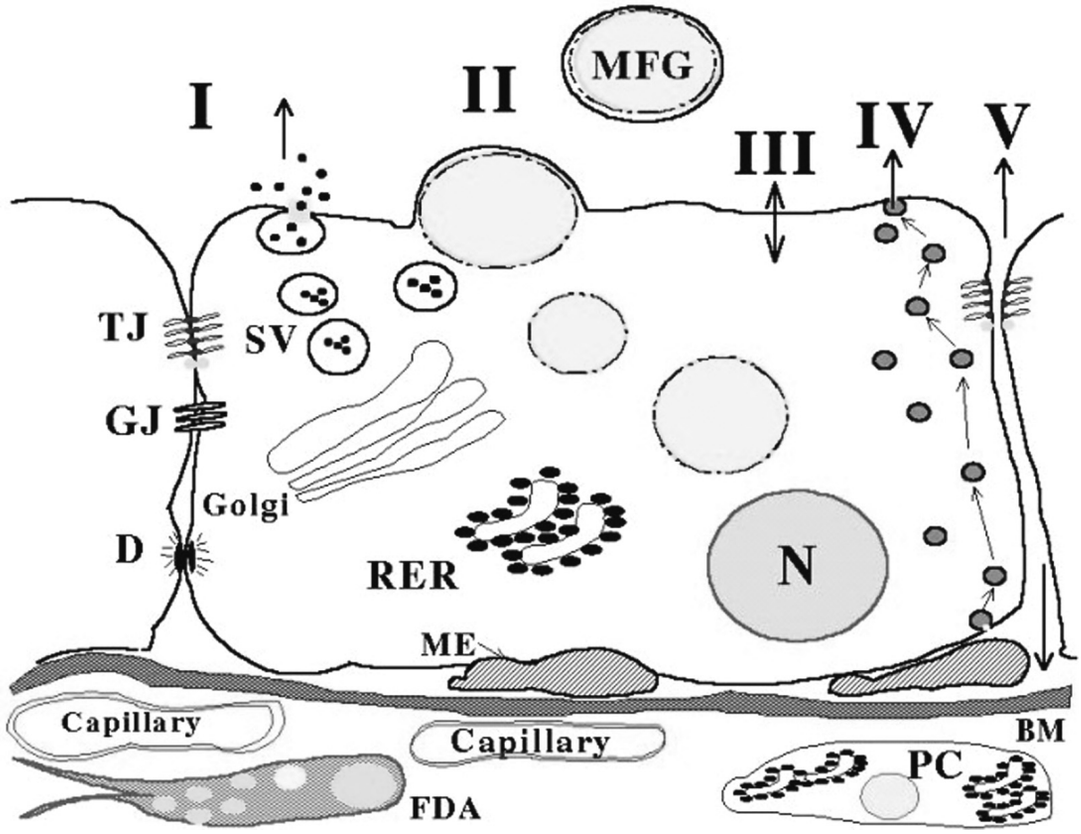

Fig. 21
Cellular mechanisms of milk synthesis and secretion:
N – nucleus;
TJ – close contacts;
GJ – slot contacts;
D – demosomas;
SV – secretory visicules;
FDA – adipocytes;
PC – plasmocytes;
BM – basal membrane;
ME – cross-section of myoepitelial cell;
RER – rough endoplasmic reticulum;
I – proteine exo-cytosis,
II – lipid transport,
III – two-side apical transport,
IV – transcytosis,
V – paracellular transport

Рисунок21. Клеточные механизмы синтеза и секреции молока:
N - ядро; TJ - плотные контакты; GJ – щелевых контактов; D - десмосомы; SV - секреторная везикулы; FDA - адипоциты; PC - плазмоциты; BM - базальная мембрана; ME - поперечное сечение миоэпителиальных клетки; RER - шероховатый эндоплазматический ретикулум. I – экзоцитоз белков, II – транспорт липидов, III – двусторонний апикальный транспорт, IV – трансцитоз, V – парацеллюлярный транспорт [67].

в состав молока включаются многие крупномолекулярные вещества (глобулины, лактоферрин, жирные кислоты, гормоны и др.)

В происхождении гидролитических ферментов в молоке принимает участие и механизм их рекреции из крови лактирующих женщин. Это активный механизм и рекреция ферментов зависит от секреторной активности гландулоцитов (лактоцитов) железами и содержания ферментов в циркулирующей крови, питающей данные железы [68].

Нами в экспериментах на лактирующих собаках показано, что при гиперамилаземии, вызванной внутривенным введением панкреатической амилазы, существенно повышается содержание амилазы в молоке [68]. Аналогичные результаты получены в другой лаборатории [70]. Гиперпепсиногенемия, вызванная внутривенным введением пепсиногена, приводила через 2 часа к двукратному повышению его содержания в молоке [68]. Экспериментальное снижение содержания гидролаз в крови после резекции желудка и гипотрофии поджелудочной железы приводило к снижению содержания соответствующих

желудочных и поджелудочных гидролаз в крови и молоке подопытных собак. Следует отметить, что если механизмы регуляции лактации исследованы достаточно глубоко [71], то ферментовыделение молочными железами и регуляция его не стали предметом специальных научных изысканий. Причиной этому, по-видимому, является еще недостаточное внимание к дигестии нутриентов молока как технологии пищеварения при лактотрофии, роли в ней не только собственного, но и аутолитического пищеварения, широко используемые в неонатологии и педиатрии приемы нутрициологии, в том числе различные молочные смеси и заменители грудного молока, распространенность технологии искусственного вскармливания детей грудного возраста.

Пептидомика в лактотрофии

Лактотрофия как естественная технология питания ребенка занимает важнейший период перехода антенатального периода индивидуального развития макроорганизма к последующему постнатальному многолетнему дефинитивному питанию, включая время смешанного питания ребенка. Соответственно, аутолитическое пищеварение посредством гидролаз грудного молока в разных количественных соотношениях кооперируется с собственным пищеварением, реализуемым гидролазами пищеварительных желез и тонкой кишки ребенка. В этой закономерной динамике снижается содержание гидролаз в молоке, когда нарастает ферментовыделение пищеварительного тракта ребенка, то есть уменьшается роль аутолитического и увеличивается участие в трофике ребенка собственного пищеварения, как ведущего типа пищеварения при дефинитивном питании. В такой общей закономерности выявлен саморегуляторный эффект повышения содержания гидролаз в грудном молоке, если оно в первый месяц лактации оказалось сниженным, и наоборот, происходило последовательное от месяца к месяцу лактации снижение содержания гидролаз в молоке, если в первый ее месяц содержание гидролаз в молоке оказалось в разной мере достаточно высоким.

Физиологический механизм этого явления, присущего трем типам гидролаз молока (липазе, амилазе, протеазным зимогенам) требует специального исследования. Предметом дискуссии может служить назначение данного явления – компенсация дигестивного дефицита в кооперировании двух типов пищеварения при исходно низком содержании гидролаз в молоке из-за развивающейся в разном темпе ферментовыделительной деятельности пищеварительного тракта ребенка. Не исключено участие в данной саморегуляции регуляторных компонентов грудного молока. Таковыми в его составе являются многие вещества: гормоны, их молекулярные предшественники, ряд белков и образующихся из них в результате ограниченного протеолиза физиологически активных пептидов. Да и сами гидролазы, зимогены протеаз, ингибитор трипсина обладают свойствами регуляторов и модуляторов многих функций, в том числе секреторной [72].

Важно назвать принципиально актуальную регуляторную полипотентность ингредиентов молока. Группа многократно цитированных зарубежных исследователей гидролаз и пептидов молока сравнила пептиды, содержащееся в молоке и желудочном аспирате инкубированного в желудке детей грудного

молока с пептидами, образующимися при гидролизе β-казеина, эффекты которых изучены [26]. Это – эффекты иммуномодуляции, опиоидных агонистов, антибактериальные, антигипертензивные, пробиотические. Названные пептидергические эффекты следует признать жизненно важными для кормящей матери и ее ребенка.

К этому перечню можно добавить сведения других работ о содержании в грудном молоке биологически активных веществ и образовании таковых в результате протеолиза [6, 10, 15, 72, 73, 74], в их числе лептина и грелина, обладающих многими эффектами, включая свойства регулятора пищевого поведения, аппетита и насыщения [72]. Нельзя не напомнить о пептидах-опиоидах, в их числе казоморфине, образующемся при гидролизе β-казеина материнского молока [26], который имеет ряд эффектов данного класса пептидов, в том числе, проникнув в мозг, успокаивает накормленного ребенка [72].

В недавнем программном обзоре литературы по пептидам молока [52] названы основные их физиологические и возможные терапевтические эффекты в группах пептидов молока: антимикробные, антиоксидантные, ингибирующие глюкагоноподобный пептид 1, желудочный ингибирующий пептид, противовоспалительные пептиды, иммуномоделирующие пептиды (9 пептидов), опиоидные пептиды (агонисты и антагонисты соответствующих рецепторов), антитромботические и др. Авторы в введении статьи (с. 673–674) сообщают, что более 60 пептидов одобрены и доступны в качестве терапевтических средств, многие «пригодны в качестве пищевых добавок для новорожденных».

Общепринято, что молочное вскармливание является «золотым стандартом», названы многие «золотые» ингредиенты материнского молока [44, 48]. К числу их следует отнести и гидролитические ферменты, необходимые в аутолитическом пищеварении при естественной лактотрофии младенцев. Это объясняет приглашение к исследованию и внедрению в практику определения стартового полиферментного дигестивного потенциала системы пищеварения новорожденных младенцев [44, 74] и гидролитических ферментов грудного молока [68], кооперации двух типов пищеварения в норме и при перинатальной патологии.

Грудное молоко как уникальный и безальтернативный продукт питания младенца явилось объектом исследования, прежде всего, как такой продукт с набором соответствующих нутриентов. Вслед за этим аспектом исследовательского внимания стали защитные свойства компонентов молока, в основном его иммунные свойства, затем как средства, оптимизирующего микробиоту младенца. Аспект педиатрической нутрициологии становится все более научно фундаментизированным и широким. Однако энзимология лактотрофии все еще остается объектом научного и прикладного плана, достоянием небольшого числа учебных и лечебно-профилактических отечественных и зарубежных учреждений и соответствующих специалистов. Причины тому объективные и субъективные, а среди них методические. Нельзя не согласиться с утверждением одного из преуспевающих коллективов и руководителя международного научного сообщества Дэвида Далласа, что «для полного понимания деятельности ферментных систем молока необходимы более точные исследовательские методы и инструменты, интегрированные общим интересом и пониманием

Fig. 22
Peptide content in milk during the days of lactation at full-term and incomplete gestation

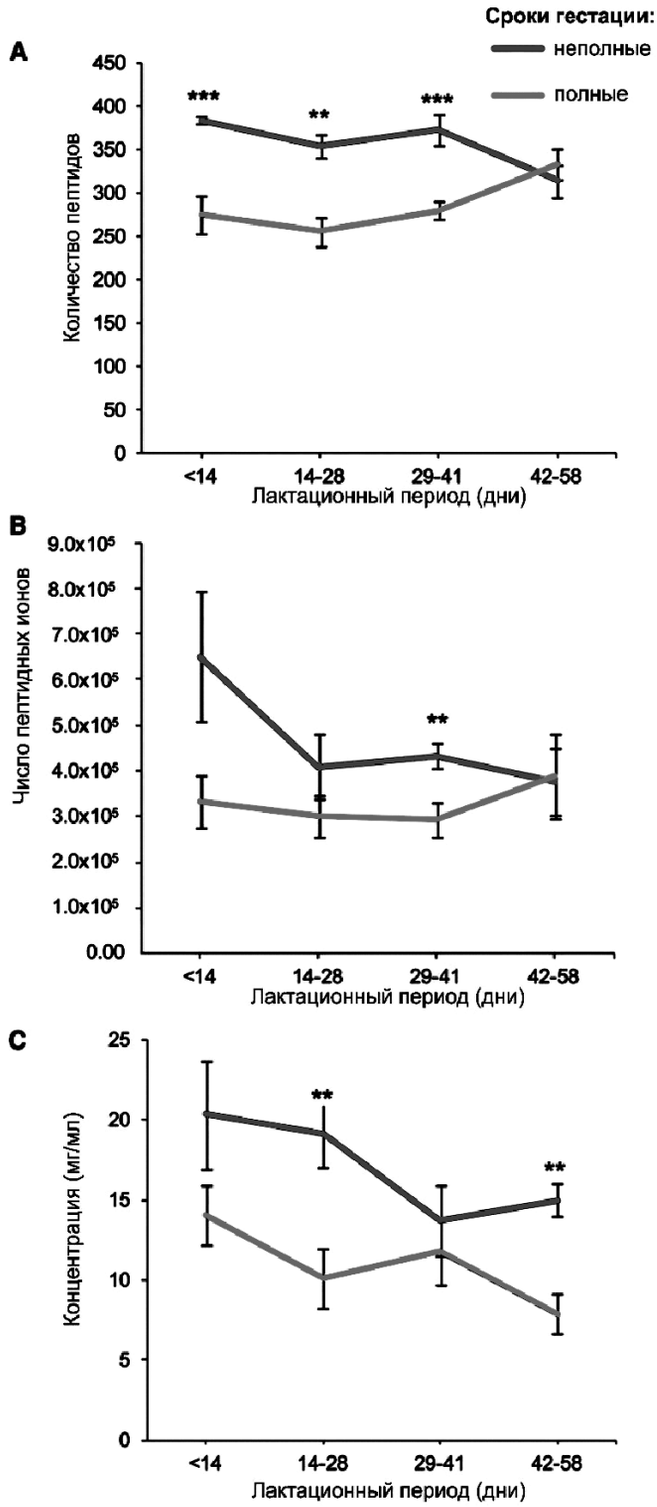

Рисунок 22. Содержание пептидов в молоке по дням периода лактации при неполных и полных сроках гестации [56]:
*Примечание: **p<0,01, ***p<0,001.*

научно-прикладной витальной ценности транскриптоники, протеомики, пептидомики, прикладной биохимии, геномики, физиологии, перинатологии, педиатрии, средств математической информатики». Методическое новаторство данного научно-технического сообщества позволили установить в составе молока сотни пептидов, увеличение их числа под влиянием протеаз пищеварительного тракта ребенка, идентифицировать многие из выявленных в молоке и его белковых гидролизатах пептидов, гомологичных известным функциональным пептида [25, 30, 52, 56].

В недавней итоговой статье Д.К. Далласа и Дж. Б. Германа [53] заключено: «В настоящее время научные исследования должны включать селективный гидролиз белков молока и выделение конкретных пептидов в наше понимание молока и его ценности для здоровья младенца». Реализация данной программы проходит в исследовании гидролитических эффектов протеаз молока в виде образования десятков и сотен пептидов при нормальной и недоношенной беременности, исследовании белков, протеиназ и пептидов так называемых «переднего» и «заднего» молока. Оба аспекта программ рассматриваются как приемы, вскрывающие механизмы дигестивных трансформаций белков молока.

Лактирующие женщины с полным (37-41 недели) и неполным (24-32 недели) сроками гестации имели грудное молоко разного состава – при недоношенной беременности оно содержало в большей концентрации белки и протеазы в ранние сроки лактации (меньше 14 дней после родов), чем при доношенной беременности. Новым оказалось, что молоко женщин с неполным сроком гестации содержало большее число пептидов (соответственно, 359±8,33 и 268±9,78) и их концентрация в молоке была в этот период лактации существенно выше (17,1±1,31 против 11,0±0,95 мг/мл), чем у женщин с нормальными сроками гестации (рис. 22). В последующие дни лактационного периода эти различия уменьшались, а через два месяца их не было.

54% всех пептидов произошли в результате гидролиза β-казеина, 15% из остеопонтина, 12% из α-казеина и т. д., в общей сложности пептиды произошли из 15 гидролизованных белков-предшественников. 97,1% пептидов содержались в обоих видах молока. Сравнение полученных пептидов с таковыми функциональной библиотеки привело исследователей к заключению, что они относятся к антигипертензивным, антимикробным и иммуномодулирующим.

При недоношенной гестации, в отличие от нормальной по срокам, концентрация протеаз в грудном молоке изначально и по дням лактации со времени рождения нарастает [56]. Назначение этого явления адаптационно-компенсаторное, а механизмом называется неплотность межклеточных контактов лактоцитов в несформированных еще молочных железах, что приводит к парацеллюлярному транспорту гидролаз из крови матери в состав ее молока [65].

Следовательно, постулируется пассивный механизм повышения ферментативной активности молока женщин с недоношенной гестацией в условиях функциональной недостаточности дигестивной деятельности пищеварительного тракта новорожденного ребенка. При этом, несомненно, назначение повышения гидролитической активности молока компенсировать дигестивный потенциал лактотрофии. Такой же «физиологический смысл» повышения ферментативной активности молока в отставленные сроки лактации, если

активность ферментов (содержание в молоке) была низкой в начале постнатального периода [49, 50]. Напрашивается допущение наличия активного механизма регуляции ферментативной активности молока. Поиск данного физиологического механизма представляет не только научный, но и практический интерес. В этом плане продуктивно допущение, что при неполном сроке гестации, когда по нашим данным снижен стартовый дигестивный потенциал системы пищеварения новорожденных детей по амилазе, двум пепсиногенам, щелочной фосфатазе [74], повышение содержания протеаз в грудном молоке «обусловлено увеличением экспрессии активаторов или уменьшением экспрессии ингибиторов в незрелой молочной железе женщин с неполным сроком гестации» [56].

При этом число пептидов и активность (темп) их образования в результате протеолиза выше при недоношенной (неполной) гестации, основным источником пептидов выступают казеины (β и α), а также остеопонтин (рис. 23). Это подтверждает наибольшую адаптированность данных белков как нутриентов в лактотрофии и это правило реализуется не только в аутопротеолизе, но и гидролизе казеинов в собственном типе пищеварения младенцев [34].

Аналогичная закономерность проявилась в активности плазмина в молоке женщин с доношенной и недоношенной беременностями – существенно выше активность в молоке вторых, чем первых в ранние постнатальные сроки, затем происходило нивелирование данной ферментативной активности молока, различий не было в 42-58 постнатальные дни. Напомним, что в грудном молоке плазмин является основной протеазой в образовании пептидов.

По настоятельному предположению авторов, повышение содержания пептидов в молоке женщин с недоношенной беременностью является результатом образования их в молочной железе под влиянием протеаз и их активаторов, в повышенном количестве транспортированных из крови женщин через неплотные межклеточные контакты эпителиоцитов таких желез. При полноценной по срокам гестации данные контакты уже сформированы, препятствуют парацеллюлярному транспорту протеаз из кровотока в лагуны и протоки железы и различия в содержании гидролаз и образованных ими пептидов в грудном молоке женщин с полными и неполными сроками гестации нивелируются, то есть различий в данных параметрах молока уже нет или почти нет. Эта «транспортная парадигма» международным научным коллективом поддержана в нескольких работах [27].

По нашему мнению, механизмы транспортно-гидролитической описанной ферментной и пептидной феноменологии должны стать предметом дальнейших специальных исследований достаточно численного контингента строго верифицированных по здоровью, срокам гестации и послеродового периода женщин. Что касается динамичного наличия в составе грудного молока многочисленного пула низкомолекулярных пептидов как продукта протеолиза эндогенных протеаз, то это является важнейшим итогом описываемых исследований, независимо от их теоретической интерпретации.

В этом плане особый интерес имеют результаты комплексного изучения, получаемого от четырех женщин переднего и заднего (раннего и позднего) молока, то есть в начале и в конце кормления, тем же научным коллективом [52].

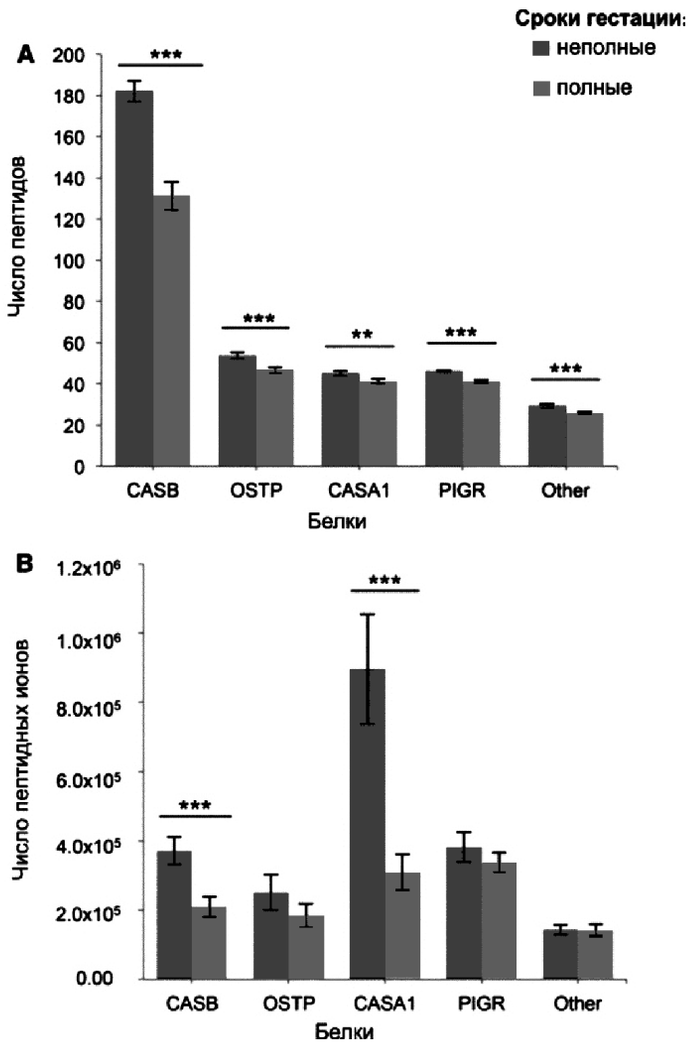

Fig. 23
Quantity of peptides that were identified in milk, origin of peptides in full-term and incomplete gestation
Note:
CASA1 – casein,
CASB – casein;
OSTP – osteopontin,
PIGR – polymer immunoglobuline receptor;
others.

Рисунок 23. Количество пептидов, идентифицированных в молоке, белки происхождения пептидов при полных и неполных сроках гестации [56]:
*Примечание: **p<0,01, ***p<0,001. Белки: CASA1 - α-казеин; CASB - ß-казеин; OSTR - остеопонтин; PIGR- полимерный иммуноглобулиновый рецептор; другие.*

Концентрация общего белка в переднем (10,2±0,4 мг/мл) и заднем (9,5±0,4 мг/мл) молоке не различалась, но в первом идентифицировано 474±14, а во втором молоке 591±14 пептидов, из них 370,3±4,7 пептидов оказались одними и теми же в двух видах молока, количественно содержалось больше (p<0,005) на 36 пептидов в заднем молоке, чем в переднем. Пептиды в молоке происходили при гидролизе 42 белков, в том числе из β-казеина 51,1±7,4%; из остеопонтина 31,1±11,3%; из α-казеина 11,1±6,1% и т. д.

По заключению авторов, увеличение числа пептидов явилось результатом более длительного пребывания (40-45 минут) молока в грудной железе и возросшего времени инкубации, в результате гидролиза белков образовалось большее количество пептидов. Из-за меньшего объема заднего молока, чем

переднего дебиты пептидов двух видов молока практически не различались.

Переднее и заднее молоко в протеолитической активности существенно не различаются. Это присуще также ингибиторам протеиназ (α1-антитрипсин, α1-антихимотрипсин, α2-антиплазмин, антитромбин III). Им придается большое значение в сохранении важнейших для детей иммунных свойств белков молока, предупреждении лизиса тканей молочных желез, с которыми контактирует синтезированное и транспортируемое в сосок груди молоко.

Итак, при неполных сроках гестации грудное молоко имеет не только повышенное содержание белков, но продуктов их гидролиза – пептидов. Это происходит на фоне сниженного стартового дигестивного потенциала системы пищеварения новорожденных младенцев, что доказано нами по всем гидролазам, за исключением липазы, в том числе и по протеазам. Показанная нами мобильность ферментативной активности грудного молока в зависимости от величины ее в первый месяц лактации может найти объяснение в вариабельности стартового дигестивного потенциала. Данный проблемный вопрос требует специального исследования путем параллельного определения ферментативной активного грудного молока и стартового полиферментного потенциала системы пищеварения новорожденного ребенка, в том числе динамики этих ферментных показателей в ранние сроки лактации. Технически это, как показано нами, представляется возможным. Механизм таких целенаправленных подвижек ферментативной активности грудного молока при неполной гестации может быть не только пассивным транспортным, но и активным – увеличенным синтезом белка молочными железами матери.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Некоторое время тому назад нами было сформулировано понятие «стартовый ферментный дигестивный потенциал системы пищеварения новорожденного ребенка» [17]. Он начально формируется в антенатальный период развития плода и в постнатальный период с первого дня рождения ребенка. Гидролитические ферменты, экзосекретируемые пищеварительными железами и тонкой кишкой младенца, обеспечивают гидролиз нутриентов грудного молока по типу собственного полостного и пристеночного пищеварения. В ранние постнатальные сроки полинутриентный дигестивный эффект данного пищеварения минимальный из-за морфофункциональной не полной сформированности системы пищеварения младенца, с возрастом ребенка и развитием данной системы с ее секреторной, в первую очередь ферментовыделительной, моторной и абсорбционной функциями дигестивный эффект нарастает. Ранний прикорм, а также искусственное вскармливание ребенка грудного возраста индуцирует развитие пищеварительных функций, усиливает секрецию главных пищеварительных желез, их ферментовыделение, и, следовательно, собственное пищеварение [75, 76].

Взаимосвязано с данным системным выражением онтогенеза происходит полинутриентное аутолитическое пищеварение новорожденного посредством гидролитических ферментов самого грудного молока. Оно имеет ферментные системы гидролиза липидов, белков и углеводов. Гидролитическая активность ферментов наибольшая у молозива, снижаясь в переходном и зрелом молоке с увеличением срока лактации и дигестивного потенциала системы пищеварения ребенка грудного возраста.

В период его молочного вскармливания кооперируются или конвергируются два типа пищеварения в пищеварительном тракте ребенка: собственное – его гидролазами, и аутолитическое – гидролазами принятого ребенком грудного молока (рис. 24).

Конвергенция двух типов пищеварения происходит не только в виде суммации гидролитических эффектов одноименных ферментов пищевари-

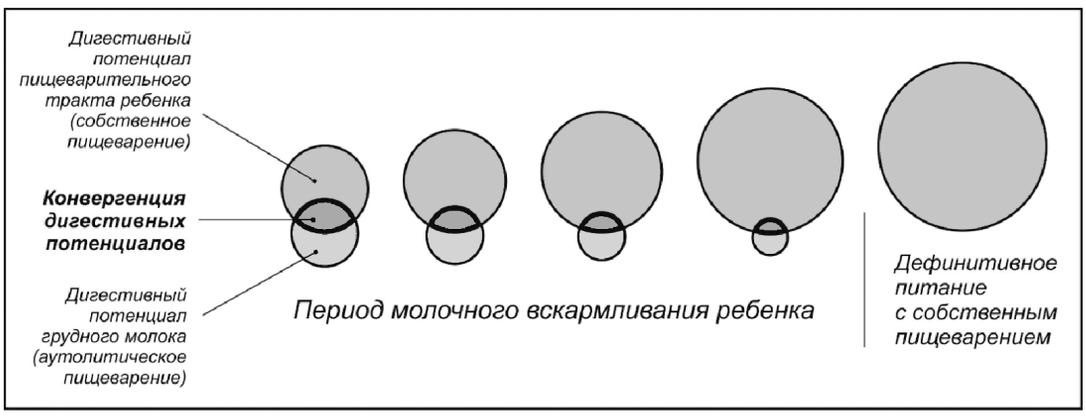

Рисунок 24. Конвергенция собственного и аутолитического пищеварения в лактотрофии ребенка

тельных желез и грудного молока, но и в виде индукции ферментативных активностей в пищеварительном тракте ребенка. Такое индуцированное пищеварение при лактотрофии в системе пищеварения, как развитие учения А.М. Уголева о естественной технологии пищеварительного процесса [34], представлено в периодической печати и монографиях автора.

При анализе лактотрофии в одних научных школах отдано предпочтение собственному типу пищеварения, в других – аутолитическому. Каждый из двух конвергированных в единую динамичную естественную технологию имеет свои временны́е, возрастные и лактационные особенности, в общем плане состоящее в конвергенции убывающего в дигестивной эффективности аутолитического и нарастающего собственного пищеварения. Немаловажно, что количественная характеристика только дигестивного потенциала пищеварительного тракта вскармливаемого грудным молоком ребенка не может быть решающим критерием фактического потенциала дигестии нутриентов в системе пищеварения ребенка, так как в процессе дигестии нутриентов молока велико участие аутолитического пищеварения. С другой стороны, количественная характеристика только ферментных систем молока, то, что можно назвать его дигестивным потенциалом, не может достаточно полно информировать о фактической системной полинутриентной дигестии в лактотрофии.

Конвергенция собственного и аутолитического пищеварения в естественной лактотрофии молочно вскармливаемого ребенка является примером деятельности функциональной системы мать-дитя во взаимодействии физиологической системы пищеварения ребенка и физиологической системы лактации матери. Можно назвать как примеры функционального единства двух названных систем в организме матери: содержание в грудном молоке лактирующей женщины рекретируемых ее молочными железами из крови гидролаз пищеварительных желез [35]; участие кишечной микробиоты лактирующей женщины в формировании микробиоты ее грудного молока [77]. Еще подобного рода пример: содержание в грудном молоке коротких (в том числе регуляторных) пептидов, не только образованных протеазами молока, о чем шла речь выше, но и рекретированных из крови матери пептидов ее пищеварительного тракта, так как рекреция свойственна всем экзокринным железам [78], в том числе молочным [35]. Приведение примеров функциональной взаимосвязи систем пищеварения и лактации можно продолжить [79], но это не имеет прямого отношения к предмету настоящей публикации.

Принципиально важным этапом современного развития представлений о лактотрофии явились результаты исследования ферментной деградации белков молока его протеазами с образованием не только трофологически ценных аминокислот, но и сотен различных пептидов. Одни из образованных в ограниченном селективном протеолизе пептиды имеют уже известные, в той или иной мере изученные морфофункциональные эффекты, другие еще состоят на уровне их исследования, третьи – неизвестны и «ждут» установления их позитивных и негативных влияний.

Практическая реализация такой задачи как не только научной, но и клинико-диагностической представляется не простой. Поэтому в решении поставленных прикладных задач, конечно, не лишены значимости количественные

характеристики потенциала лактотрофии по оценке ферментивных активностей компонентов собственного типа пищеварения (дигестивный потенциал системы пищеварения ребенка) и аутолитического пищеварения (дигестивного потенциала грудного молока). Значимость таких поисков и находок для науки и многосторонней практики трудно переоценить в питании новорожденных детей с низкой массой тела [11], в применении различных технологий искусственного и смешанного вскармливания детей раннего постнатального периода развития. Лактотрофия с учетом участия в ней биологически активных ингредиентов грудного молока особенно важна в переходе от гемотрофии и амниотрофии ребенка, от внутриутробного к последующим ранним стадиям внеутробного его развития [1, 75], особенно в неонатальный период, то есть в первый месяц жизни младенца [52, 76, 77, 78, 80, 81, 82]. Мы надеемся, что с накоплением научных знаний о стартовом дигестивном потенциале системы пищеварения новорожденных младенцев и энзимном потенциале грудного молока родильницы их результаты дополнят число послеродовых параметров характеристики системы мать-плод.

Литература | References

1. *Аршавский И.А., Немец М.П.* О смене типов питания и пищеварения в онтогенезе // Успехи физиол. наук. 1996. Т. 27, № 1. С. 109–129.

   Arshavsky I. A., Nemets M. P. On the change of types of nutrition and digestion in ontogenesis. Advances of Physiological Sciences. 1996, vol.27, no.1, pp. 109–129.

2. *Капитан Т.В.* Пропедевтика детских болезней с уходом за детьми. 5-е изд., доп. М.: Изд. МЕДпресс-информ, 2009. 657 с.

   Kapitan T. V. Propedevtika detskikh boleznei s ukhodom za det'mi. M.: MEDpressinform; 2009, 657 p. (in Russian)

3. *Коротько Г.Ф.* Система пищеварения и типы питания в онтогенезе. Краснодар: «Традиция», 2014. 176 с.

   Korot'ko G. F. Sistema pishhevarenija i tipy pitanija v ontogeneze. Krasnodar: "Tradicija", 2014, 176 p. (In Russ.)

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

   Ugolev A. M. Digestive evolution and principles of function evolution. The elements of modern functionalism. Leningrad: Nauka; 1985. 544p. (in Russian)

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

   Ugolev A. M., Tsvetkova V. A. Induced autolysis as important mechanism of initial digestive stages in natural conditions. Fiziologicheskiy zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova. 1984; 70(11): 1542–50. (in Russian)

6. *Маслов М.С.* Учебник детских болезней. Л.: Медицина, 1953. 512 с.

   Maslov M. S. Textbook of pediatric diseases. L.: Meditsina, 1953.512 p.

7. *Albrecht T. W., Iaynes H. O.* Milk Lipase // J. Dairy Sci. 1955. V. 38. N2. P. 137–146.

8. *Chandan K. C., Shahani K. M.* Purification and characterization of milk lipase // I. Purification // J. Dairy Sci. 1963. V. 46. N4. P. 275–283.

9. *Fanaroff A. A., Martin R. Y. (Ed.)* / Neonatal-Perinatal Medicina / Mosby. 2002. 1732 p.

10. *Hamosh M.* Bioactiv Components in Human Milk // Pediatric. Basics. 2002. N99. P. 2–11.

11. *Адамкин, Дэвид Х.* Стратегия питания младенцев с очень низкой массой тела при рождении. Пер. с англ., под ред. Е. Н. Байбариной. М.: Изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2013. 176 с.

    Adamkin D. H. Feeding strategy of newborns with very low body mass in birth. Trans. from English by Baibarina E. N. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. 176p. (in Russian)

12. *Аршавский И.А.* Липаза материнского молока и ее значение в связи с оценкой отрицательных сторон искусственного вскармливания // Педиатрия. 1940. № 4. С. 11–13.

    Arshavsky I. A. Lipase of mother's milk and its value in connection with the assessment of the negative aspects of artificial feeding. Pediatrics. 1940, no. 4, pp. 11–13

13. *Брокерхоф Х., Дженесен Р.* Липолитические ферменты (пер. с англ.). М.: Мир, 1978. 396 с.

    Brockerhoff H., Jensen R. Lipolytic Enzymes: English transl. M.: Mir, 1978, 396 p.

14. *Володин Н.Н. (гл. ред.)* Неонатология. Национальное руководство // М.: ГЕОТАР-Медиа, 2007. 848 с.

    Volodin N. N. (gl. red.) Neonatologija. Nacional'noe rukovodstvo. M.: GEOTAR-Media, 2007, 848 p. (In Russ.)

15. *Hamosh M.* Enzymes of human milk // Handbook of milk composition / Ed. R. Jencen. N.– Y.; Academic Press, 1995. P. 388–427.

16. *Ширина Л.И., Мазо В.К.* Система пищеварения ребенка, ее созревание // Ч. I, гл. 3. С. 25–50.

    Shirina L. I., Mazo V. K. Sistema pishhevarenija rebenka, ee sozrevanie. Tuteljan V. A., Kon' I. Ja. Detskoe pitanie. Rukovodstvo dlja vrachej, 2009. Ch. I, gl. 3: 25–50. (In Russ.)

17. *Шабалов Н.П. (гл. ред.)* Неонатология – 4-е изд. [В 2-х т.]. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 344 с.

    Shabalov N. P. (gl. red.) Neonatologiya – 4-e izd. [2-h t.]. M.: MEDpress-inform, 2006, 344 p. (In Russ.)

18. *Пенжоян Г.А., Модель Г.Ю., Коротько Г.Ф.* Закономерность формирования у новорожденных детей дигестивного стартового потенциала. Диплом на открытие № 499 от 27.08.2017. Регистрационный № 648.

Penzhoyan G. A., Model' G.YU., Korot'ko G. F. Zakonomernost' formirovaniya u novorozhdennyh detej digestivnogo startovogo potenciala. Diplom na otkrytie No499 ot 27.08.2017. registracionnyj No648. (In Russ.)]

19. *Володин Н. Н. (гл. ред.)* Неонатология. Национальное руководство // М.: ГЕОТАР-Медиа, 2007. 848 с.

Volodin N. N. (gl. red.) Neonatologija. Nacional'noe rukovodstvo. M.: GEOTAR-Media, 2007, 848 p. (In Russ.)

20. *Баранов А. И., Климанская Г. В., Римарчук Г. В.* Детская гастроэнтерология. М., 2003. 1029 с.

Baranov A. I., Klimanskaya G. V., Rimarchuk G. V. Detskaya gastroehnterologiya. M., 2003, 1029 p. (In Russ.)

21. *Тутелян В. А., Конь И. Я.* Детское питание. Руководство для врачей (ред.). М.: ООО Медицинское информагентство, 2009. 952 с.

Tutelyan V. A. Pediatric nutrition. Manual for physicians (eds.: V. A. Tutelyan, I. Ya. Kon'). M.: LLC "Meditsinskoye informagentstvo", 2009. 952 p.

22. *Коротько Г. Ф.* Типы пищеварения при грудном вскармливании детей: возвращение к проблеме // Вопросы питания. 2016, Т. 85, № 1. С. 19–28.

Korot'ko G. F. Types of digestion in breast feeding: returning to the problem. Problems of Nutrition. 2016, vol. 85, no.1, pp.19–28.

23. *Уголев А. М.* Естественные технологии биологических систем. Л.: Наука, 1987. 317 с.

Ugolev A. M. Natural technologies of biological systems. Saint Petersburg, Science Publ., 1987, 317 p.

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

Ugolev A. M. Evolution of digestion and principles of evolution of functions. Elements of up-to-date functionalism. L.: Nauka, 1985. 544 p.

25. *Dallas DC, Guerrero A, Khaldi N, Borghese RA, BhandariA, Underwood MA et al.* A peptidomic analysis of human milk digestion in the infant stomach reveals protein-specific degradation patterns // J. Nutr., 2014: 144(6). P. 815–820.

26. *Dallas DC, Murray NM, Gan J.* Proteolytic systems in milk: perspectives on the evolutionary function within the mammary gland and the infant // J. Mammary Gland Biol Neoplasia. 2015 Dec; 20(3–4). P. 133–147.

27. *Dallas DC, Underwood MA, Zivkovic AM, German JB.* Digestion of protein premature and term infants // J. Nutr. Disord. Ther. 2012: 2(3). P. 112–121.

28. *Ferranti P, Traisci MV, Picariello G, Nasi A, Boschi V, Siervo M et al.* Casein proteolysis inhuman milk: Tracing the pattern of casein breakdown and theformation of potential bioactive peptides // J. Dairy Res. 2004. P. 71 (01), 74–87.

29. *Hamosh M.* Enzymes of human milk // Handbook of milk composition / Ed. R. Jencen. N.– Y.; Academic Press, 1995. P. 388–427.

30. *Holton TA, Vijaykumar V, Dallas DC, Guerrero A, Borghese RA, Lebrilla CB et al.* Following the digestion of milk proteins from mother to baby // J. Proteome Res. 2014. P. 13(12): 5777–5783.

31. *Kelly AL, O'Flaherty F, Fox PF.* Indigenous proteolyticenzymes in milk: A brief overview of the present state of knowledge //Int. Dairy J. 2006. P. 16 (6), 563–572.

32. *Khaldi N, Vijayakumar V, Dallas DC, Guerrero A, Wickramasinghe S, Smilowitz JT et al.* Predicting the important enzyme playersin human breast milk digestion // J. Agric. Food Chem. 2014. P. 62 (29),7225–7232.

33. *Silanikove N, Merin U, Leitner G.* Physiological role ofindigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture // Int. Dairy J. 2006. P. 16 (6), 533–545.

34. *Коротько Г. Ф.* Питание и пищеварение на ранних этапах онтогенеза человека. Памяти академика А. М. Уголева. Краснодар: Традиция, 2016. 86 с.

Korotko G. F. Feeding and digestion on the earlier periods of human ontogenesis. Krasnodar: Tradition; 2016. 86p. (in Russian)

35. *Коротько Г. Ф.* Рециркуляция ферментов пищеварительных желез. Краснодар. Изд. «ЭДВИ», 2011. 144 с.

Korotko G. F. Recurculation of digestive glands enzymes. Krasnodar: Publ. "EDVI"; 2011. 144p. (in Russian)

36. *Salaspuro M, Sipponen P, Sugano K, Sung J.* Rationaleindiagnosisandscreening of atrophic gastritis with stomash-specific plasma bionarkers // Scand. J. Gastroenterol. 2012. P. 47(2), 136–147.

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

Tzapok P. I., Drozdov V. N. Amniotic fluid in system "Mother – placenta – fetus". Kemerovo: Book publishers; 1986. 103p. (in Russian)

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

Penzhoyan G. A., Model G. Yu., Korotko G. F., Khorolskii V. A. Amniotic fluid hydrolase in newborn complex characteristics. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2017; (1): 66–70. (in Russian)

http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.1.66–70

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

Kolodkina E. V., Kamakin N. F. Gomeostaz inkretiruyemykh fermentov u zhenshchin pri beremennosti i v period grudnogo vskarmlivaniya [Homeostasis of Incremental Enzymes in Women During Pregnancy and During Breastfeeding]. Kirov, Kirov State Medical Academy Publ., 2008. 156 p.

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

Kolodkina Ye.V., Kamakin N. F. Enzyme homeostasis in women at pregnancy, in relation to term and type of delivery. Kirov: Kirov SMA, 2008. 111 p.

41. *Кулик В. П., Шалыгина Н. Б.* Морфология тонкой кишки // Руководство по физиологии. Л.: Наука, 1977. С. 5–81.

Kulik V. P., Shalygina N. B. Morphology of the small intestine: Manual on physiology. L.: Nauka, 1977. P. 5–81.

42. *Аршавский И. А., Немец М. П.* О смене типов питания и пищеварения в онтогенезе // Успехи физиол. наук. 1996. Т. 27, № 1. С. 109–29.

Arshavsky I. A., Nemets M. P. On the change of types of nutrition and digestion in ontogenesis. Advances of Physiological Sciences. 1996, vol.27, no.1, pp. 109–129.

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

Rakhimov K. R. Mechanisms of lactose assimilation in human and animal ontogenesis. Tashkent: Ed. "FAN" UzSSR AS, 1991. 136 p.

44. *Коротько Г. Ф.* Дигестивный и регуляторный эффекты липолитической активности химуса // Клинич. медицина. 2001. № 11. С. 8–12.

Korot'ko G. F. Digestivnyj i reguljatornyj jeff ekty lipoliticheskoj aktivnosti himusa. Klinich. medicina. 2001; 11: 8–12. (In Russ.)

45. *Пенжоян Г. А., Модель Г. Ю., Коротько Г. Ф.* Оценка стартового полиферментного дигестивного потенциала новорожденных. Методические рекомендации. Краснодар: Изд. «ЭДВИ», 2018.– 44 с.

Penjoyan G. A., Model' G. Yu., Korot'ko G. F. Evaluation of the starting multienzyme digestive potential of newborns. Guidelines. Krasnodar. EDVI Publ., 2018, 44 p.

46. *Остроумова Т. А.* Химия и физика молока. Учебное пособие. Кемерово Изд. КТИПП, 2004. 196 с.

Ostroumova T. A. Himiya i fi zika moloka. Uchebnoe posobie. Kemerovo Izd. KTIPP, 2004, 196 p. (In Russ.)

47. *Захарова И. Н., Дмитриева Ю. А., Гордеева Е. А.* Мембрана жировых глобул молока: инновационные открытия уже сегодня. Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2015. С. 15–21.

Zakharova I. N., Dmitrieva Y. A., Gordeeva E. A. Milk fat globule membrane: Innovation discoveries just for today. Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics). 2015;60(6):15–21.

48. *Комарова О. Н., Хавкин А. И.* Мембрана жировых глобул молока: технология будущего уже сегодня. Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2, 2016. С. 35–40.

Komarova O. N., Khavkin A. I. The milk fat globule membrane: Technology of the future is just today. Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics). 2016;61(2):35–41. (In Russ.) https://doi.org/10.21508/1027–4065–2016–61–2–35–41

49. *Коротько Г. Ф.* Пищеварение при грудном вскармливании детей (энзимологические акценты). Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии –2015. Т. 25.–№ 3.–С. 12–0.

Korot'ko G. F. Pishhevarenie pri grudnom vskarmlivanii detej (jenzimologicheskie akcenty). Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2015; 25 (3): 12–20 (In Russ.)

50. *Коротько Г. Ф.* Собственное и аутолитическое пищеварение при лактотрофии. Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2017, № 3. С. 3–13.

Korot'ko G. F. Autologous and autolytic digestion in lactotrophy. Journal of Fundamental Medicine and Biology. 2017, no. 3, pp. 3–13.

51. *Уголев А. М., Тимофеева Н. М., Груздков А. А.* Адаптация пищеварительной системы // Физиология адаптационных процессов: Рук. по физиологии. М.: Наука, 1986. С. 371–80.

Ugolev A. M., Timofeeva N. M., Gruzdkov A. A. Adaptacija pishhevaritel'noj sistemy. Fiziologija adaptacionnyh processov: Ruk. po fiziologii. M., Nauka, 1986, pp. 371–480. (In Russ.)

52. *Nielsen S.D, Beverly R. L., Qu Y., Dallas D. C.* Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization. / Food Chemistry 232(2017). P. 673–682.

53. *Dallas D. C., German J. B.* Enzymes of human milk. Nestle Nutr Inst Workshop Ser. 2017; 88. P. 129–136.

54. *Demers-Mathieu V., Nielsen S. D., Underwood M. A., Borghese R., Dallas D. C.* 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 // J. Nutr., 2017; 147(6). P. 1152–1159.

55. *Rodrigues LR.* Milk minor constituents, enzymes, hormones, growth factors, and organic acids. 2013. p. 1–60.

56. *Dallas DC, Smink CJ, Robinson RC, Tian T et al.* Endogenous human milk peptide release is greater after preterm birth than term birth. J Nutr 2015 Mar;145(3). P. 425–33.

57. *Шатерников В. А.* Протеолитическая активность и содержание ингибитора трипсина в сыворотке крови и соке поджелудочной железы при хроническом панкреатите // Вопр. мед. химии. 1966. Т. 12, вып. 1. С. 103–05.

Shaternikov V. A. Proteolytic activity and trypsin inhibitor content in blood serum and pancreatic juice at chronic pancreatitis. Vopr med khimii 1966; 12, issue 1:103–5.

58. *Hirsihowitz B. I.* The control of pepsinogen secretion // Ann. Acad. Sci. 1967. V. 140. N4. P. 709–23.

59. *Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г. и др.* Исследование пищеварительного аппарата у человека (Обзор современных методов) Л.: Наука, 1969. 216 с.

Ugolev A. M., Iyezuitova N. N., Masevich Ts.G. et al. Investigation of human digestive system (Review of modern methods). L.: Nauka, 1969. 216 p.

60. *Абдуллаев Ф. А.* Модифицированный метод определения липолитической активности пищеварительных соков // Материалы Второй республиканской конференции по клинической биохимии. Ташкент, 1965. С. 45–8.

Abdullayev F. A. Modified method of assessment of lipolytic activity of digestive secretions: abstracts of the Second Republic conference on clinical biochemistry. Tashkent, 1965. P. 45–8.

61. *Коротько Г. Ф., Мирзакаримов У. М.* О гидролазах грудного молока // Вестник интенсивной терапии. 2014. № 5. С. 75–0.

Korot'ko G.F., Mirzakarimov U. M. O gidrolazakh grudnogo moloka. Vestnik intensivnoi terapii. 2014; 5: 75–80.

62. *Коротько Г. Ф.* Секреция поджелудочной железы. 2-е изд. Краснодар. Изд. КГМУ, 2005. 312 с.

Korot'ko G. F. Sekretsiya podzheludochnoy zhelezy [Secretion of the Pancreas]. 2nd ed. Krasnodar, KSMU Publ., 2005. 312 p.

63. *Rothman S., Liebow C., Isenman L. C.* Conservationofdigestiveenzymes // Physiol. Rev. 2002; (82). P. 1–8.

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

Serov V. N., Strizhakov S. A., Markin S. A. Prakticheskoe akusherstvo. Rukovodstvo dlya vrachei. M.: Meditsina. 1989, 512 p.

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

66. *Hernell O.* Human milk vs. Cow´s milk and the evolution of infant formulas. Nestle Nutr Inst Workshop Ser Pediatr Program, 2011. (67). P. 17–28.

67. *Neville M. C.* Milk secretion: an overview // mammiary.nih.gov / reviews / lactation / Neville 001/21.09.2000.

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

Korot'ko G. F. Hydrolase of breast milk in neborn lactotrophy. Journal of Fundamental Medicine and Biology. 2018, no. 2, pp. 3–12.

69. *Морозов И. А.* Везикулярный внутриклеточный транспорт в органах пищеварения, мембранная везикула –универсальный механизм функционального транспорта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2014, вып. 102, № 2. С. 3–15.

Morozov I. A. Vesicular Intracellular Transport In The Digestive Organs. Membrane Vesicle – The Universal Mechanism Of The Functional Transport. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2014, vol.102, no. 2, pp. 3–15.

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

Degtyaryov B., Degtyareva T. V. Milk amylolytic activity: Abstr. I conf. biochem. Middle Asia, Kazakhstan. Tashkent, 1966. P. 128.

71. *Щербаков А. Ю., Си Юе.* Особенности лактационной функции родильниц // Акушерство и гинекология. 2008, № 4. С. 56–59.

Shcherbakov A. Y., Ue Si. Peculiarities of lactation function in puerpera. Mezhdunarodnyiy meditsinskiy zhurnal. 2008; 4: 56–59. (in Russian)

72. *Марьянович А. Т.* Общая теория пептидной регуляции физиологических функций: гематоэнцефалический барьер и эволюция связей между периферией и мозгом.– СПб: СЗГМУ, 2014. 578.с.

Foundations of Peptide Regulation of the Physiological Functions: Blood-Brain Barrier and Evolution of Viscera-to-Brain Communications by *Alexander T. Maryanovich*

73. *Коротько Г. Ф.* Протеолиз в регуляции функций системы пищеварения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013. № 10. С. 23–7.

Korotko G. F. Proteolysis in regulation of function functions of the digestion system. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2013, no. 10, pp. 23–27.

74. *Пенжоян Г. А., Модель Г. Ю., Коротько Г. Ф.* Стартовый дигестивный потенциал системы пищеварения новорожденного ребенка. Журнал фундаментальной медицины и биологии. 2017, № 2. С. 20–27.

Penjoyan G. A., Model' G. Yu., Korot'ko G. F. Initial digestive potential of newborn Gastro-intestinal system. Journal of Fundamental Medicine and Biology. 2017, no. 2, pp. 20–27.

75. *Харькова Р. М.* Особенности функции пищеварения у детей первого года жизни при различном вскармливании // Вопросы питания и воспитания детей. 1968. С. 17–7.

Kharkova R. M. Digestive function in first year infants at various nutrition types. Vopr pitaniya i vospitaniya detey. 1968. P. 17–27.

76. *Харькова Р. М.* Адаптация функции пищеварения к качественно различной пище детей первого года жизни // Адаптационные и компенсаторные механизмы в патологии детского возраста: Сборник науч. трудов. М., 1972. С. 39–1.

Kharkova R. M. Adaptation of the function of digestion to qualitatively different food of children of the first year of life. Adaptation and compensatory mechanisms in the pathology of childhood: Collection of scientific Works. Moscow, 1972, pp. 39–41

77. *Rodriguez JM.* The human milk microbiota. Pediatrics (Suppl.). 2016; 4. P. 35–40.

78. *Коротько Г. Ф.* Рекреция ферментов и гормонов экзокринными железами. Успехи физиологических наук. 2003.– Т. 34, № 2. С. 21–32.

Korotko G. F. Recretion of Ferments and Hormones by Exocrinal Glands. Advances of Physiological Sciences. 2003, vol.34, no.2, pp. 21–32.

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

Grachev I. I., Galancev V. P. Fiziologiya laktacii, obshchaya i sravnitel'naya. Rukovodstvo po fiziologii. L.: Nauka, 1973, 590 p. (In Russ.)]

80. *Del Aguila EM, Flosi Paschoalin VM, Silva JT, Conte-Junior CA.* Functional Aspect of Colostrum and Whey Proteins in Human Milk. J Hum Nutr Food Sci. 2014. 2(3). P. 1035–1044.

81. *Wagner CL, Julie RD,* Considerations in meeting protein needs of the human milkfed preterm infant. Advances in Neonatal Care: August 2014, 14(4). P. 281–289.

82. *Haschke F, Haiden N, Thakkar SK.* Nutritive and bioactive proteins in breastmilk. Ann Nutr Metab. 2016; 69(2). P. 17–26.