

Перспективы профилактики и лечения синдрома мальабсорбции

Д. В. ГРИШИН, А. В. НИКИТИН

Московский государственный университет инженерной экологии Федерального агентства по образованию РФ, Москва

Prospects of Malabsorption Syndrome Prophylaxis and Therapy

D. V. GRISHIN, A. V. NIKITIN

Moscow State University of Engineering Ecology, Moscow

Синдром мальабсорбции (СМА) занимает особое место среди большого числа алиментарно-зависимых заболеваний у детей вследствие своей распространённости, полиэтиологичности и тяжести проявлений. Под СМА сейчас понимают комплекс клинических проявлений, обусловленных нарушениями полостного, пристеночного, мембранного пищеварения и транспорта в тонкой кишке, приводящий к глубоким сдвигам обмена веществ. В России у детей наиболее частыми формами СМА являются недостаточность дисахаридаз (в частности, лактазы), вызывающей непереносимость лактозы), и целиакия (непереносимость глютена).

Недостаточность лактазы имеет особое значение в раннем детстве, так как лактоза содержится в молоке, которое является основным питанием ребёнка. Лактаза (β -D-галактозидаза) синтезируется, в первую очередь, в энтероцитах кишечных ворсинок. Подобная топография и объясняет наиболее частое возникновение недостаточности лактазы не только на генетическом уровне, но и при повреждении слизистой оболочки тонкого кишечника.

Следует особо отметить, что активность лактазы максимальна у новорождённых, а в постнатальном периоде она резко уменьшается. Затем происходит дальнейшее снижение активности, и к 5 годам активность лактазы становится такой же, как у взрослых. Распространённость недостаточности лактазы среди населения варьирует в различных регионах. Например, в Карелии и в Республике Марий Эл частота недостаточности лактазы составляет 12 и 80% соответственно [1].

Выраженность клинических проявлений лактозонепереносимости не всегда напрямую связана со снижением активности лактазы. Так, непереносимость лактозы может быть обусловлена функциональной активностью энтероцитов, количеством ферментирующих лактозу бактерий и другими факторами. Среди факторов, влияющих на активность энтероцитов, следует выделить, в

первую очередь, эпидермальный фактор роста, стимулирующий экспрессию ферментов щёточной каёмки и содержащийся в высоких концентрациях в грудном молоке. Инсулин, тиреоидные гормоны, глюкокортикоиды в сочетании с состоянием вегетативной нервной системы играют большую роль в регуляции активности лактазы. Степень выраженности симптомов недостаточности лактазы зависит также от состава диеты.

Клиническая картина СМА может проявляться уже в первые дни жизни в виде учащённого, водянистого, пенистого стула с кислым запахом, который появляется через 60 минут после кормления; рвоты и срыгивания. На фоне этого проявляются абдоминальные колики, которые могут возникать даже во время кормления. Развиваются нарушения водно-электролитного баланса. Эпителий кишечника неустойчив к колебаниям водно-солевого состава среды, вследствие чего повышается проницаемость стенки кишечника для макромолекул и отмечается выделение лактозы с мочой (лактозурия).

Значительный уровень нерасщеплённой лактозы в просвете тонкой кишки, при повышенном числе бактерий в ней, приводит к образованию большого количества органических кислот, что вызывает выраженное снижение рН внутренней среды и усиление моторики кишечника. У недоношенных детей продукты, содержащие лактозу, могут вызывать даже метаболический ацидоз. Диагноз устанавливают на основании плоской гликемической кривой после нагрузки лактозой, данных копрологического исследования (увеличение содержания крахмала, клетчатки; рН кала <5,5), определения углеводов в кале с помощью пробы Бенедикта (в норме показатель не превышает 0,25% у детей до 12 месяцев и отрицательный после года). Золотым стандартом диагностики недостаточности лактазы является оценка активности дисахаридаз в биоптатах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки или в смывах, полученных при гастроскопии.

Главным способом лечения недостаточности лактазы на сегодняшний день является диетоте-

© Д. В. Гришин, А. В. Никитин, 2009

Адрес для корреспонденции: 105066 Москва, Старая Басманная ул., д. 21/4. Московский государственный университет инженерной экологии

рапия, заключающаяся в снижении потребления продуктов, содержащих лактозу. Использование только пищевых волокон (пектина), повышающих активность лактазы; препаратов, нормализующих кальциевый обмен и восстанавливающих микрофлору кишечника недостаточно. Наиболее радикальным и эффективным способом лечения СМА, связанного с недостаточностью лактазы, является приём ферментных препаратов, расщепляющих лактозу.

В свете вышеизложенного многие предприятия, производящие молочные смеси и изделия на основе молока заинтересованы в создании безлактозных молочных продуктов. До настоящего времени предпринимались попытки осуществить конверсию лактозы с помощью мезофильной β -галактозидазы в жидкой фазе. При этом, однако, наблюдалась инактивация фермента, особенно при проведении процесса при высоких температурах, что характерно для технологических процессов в пищевой промышленности. Также наблюдался унос фермента, снижающий производительность процесса. При этом происходило неконтролируемое проникновение β -галактозидазы в конечный продукт, что в ряде случаев вело к превышению в нём допустимых концентраций фермента.

Следует учитывать, что полное исключение молочных продуктов из рациона людей, страдающих лактозонепереносимостью, может вести к снижению уровня кальция в крови, что определяет необходимость компенсации его недостаточности медикаментозными средствами с целью профилактики развития остеопении и остеопороза.

При искусственном вскармливании недоношенных новорождённых, у которых отмечается транзиторная недостаточность лактазы, целесообразно использовать специализированные молочные смеси с пониженным содержанием (3,6—6 г/100 мл) лактозы. К таким смесям относятся Пре-НАН (Nestle, Швейцария), Пре-Нутрилак (Нутритек, Россия), Пре-Нутрилон (Nutricia, Нидерланды), Хумана 0 и Хумана 0-ГА (Humana, Германия), Фрисопре (Friesland Nutrition, Нидерланды), Энфалак (Mead Johnson, США) [2].

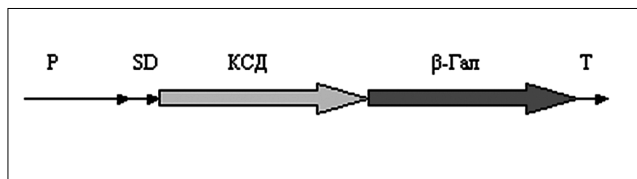
При появлении признаков недостаточности лактазы у доношенных новорождённых нецелесообразно сразу переводить таких детей на строго безлактозный рацион, так как наличие лактозы в рационе важно для нормального развития ребенка. Лактоза служит главным и легкоусвояемым источником энергии; способствует поддержанию нормального транспорта кальция, магния и марганца в кишечнике. Поскольку лактоза является субстратом для молочнокислых бактерий, её полное исключение из рациона неблагоприятно сказывается на биоценозе ЖКТ. Лактоза также является бифидогенным фактором. Неусвоенная лактоза ферментируется в толстом кишечнике, что снижает рН

среды и препятствует тем самым росту гнилостной микрофлоры. Кроме того, данный β -галактозид является основным источником галактозы, которая необходима для синтеза галактоцереброзидов в ЦНС и сетчатке глаза. Уменьшение количества грудного молока, а соответственно и лактозы, при вскармливании нежелательно. Поэтому ребенку с выраженной недостаточностью лактазы необходимо назначать препараты лактазы, которые смешивают с молоком. Эти препараты повышают суммарную лактазную активность женского молока, не влияя на другие его свойства. Для взрослых применяют лактазу в капсулах. Однако при этом трудно подобрать определённую дозировку фермента вследствие больших физических потерь лактазы при кишечной эвакуации и при инактивации лактазы под действием агрессивных факторов ЖКТ (рН, протеаз и т. д.). Используемая в настоящее время мезофильная лактаза (β -D-галактозидаза) в жидкой фазе в значительной степени подвержена действию указанных инактивирующих факторов, что снижает эффективность её применения.

Высокоочищенные препараты β -галактозидаз, получаемые обработкой лизата клеток штамма-продуцента химическими реагентами, содержат остаточные количества этих веществ, что обуславливает необходимость нормирования их содержания в соответствии с требованиями нормативной документации.

Принципиально новым подходом к получению препаратов β -галактозидаз с улучшенными характеристиками является применение методов генной инженерии. С использованием этих методов возможно создание β -галактозидаз, обладающих повышенной термостабильностью, способностью сохранять активность в широком диапазоне рН и возможностью к самостоятельному аффинному связыванию с биологически совместимыми субстратами, такими как хитин, декстран и т. д. Последнее обстоятельство является весьма важным для крупномасштабного биотехнологического производства препаратов, поскольку позволяет исключить отдельный технологический этап химической конъюгации фермента с носителем и связанные с этим процедуры контроля качества конечного продукта.

Создание подобных ферментных препаратов становится возможным при использовании штаммов бактерий, трансформированных плазмидной ДНК, несущей ген β -галактозидазы с улучшенными свойствами. В настоящее время получен рекомбинантный белок, обладающий активностью термостабильной β -галактозидазы [3]. Получен штамм *E.coli*, экспрессирующий данный белок, однако в этом случае фермент может быть иммобилизован только химическими методами, что, как было уже отмечено, способно привести к его значительной инактивации.



Общая схема организации химерных генно-инженерных конструкций.

P – промотор; SD – сайт Шайна-Дальгарно, КСД; β -Гал – последовательности ДНК, кодирующие углеводсвязывающий домен и β -галактозидазу соответственно; Т – терминирующий кодон.

Во Всемирном генетическом банке аннотированы последовательности углеводсвязывающих модулей (хитин, декстрансвязывающих доменов), которые в виде индивидуальных белков способны к высокоаффинному связыванию с соответствующими субстратами ($K_d = 10^{-6} - 10^{-9}$) [4, 5].

Существующая концепция разработки слитных генно-инженерных конструкций [6], позволила нам предложить стратегию получения ряда химерных (слитных) белков, обладающих одновременно двумя важными свойствами: лактазной активностью и способностью к самостоятельному

ЛИТЕРАТУРА

1. Ладодо К. С. Руководство по лечебному питанию детей, М.: 2000; 384.
2. Методическое письмо «Новые технологии питания детей, больных целиакией и лактазной недостаточностью». М.: 2005.
3. United States Patent. Pub №.: UniProt №Y08557, Pub.Date: December 15, 1998.

му аффинному связыванию с различными сорбентами (хитином, декстраном). Создание подобных белков может лечь в основу разработки систем для ферментации лактозы в пищевой промышленности, новых препаратов для лечения и профилактики мальабсорбции.

Целью дальнейших исследований в данном направлении является создание новых рекомбинантных белков, обладающих:

1) углеводсвязывающим доменом (КСД), обеспечивающим аффинное (нековалентное) связывание с соответствующими субстратами (твёрдой фазой) и 2) активностью термостабильной β -галактозидазы (β -Гал) (рисунок), а также комплекса на базе данного белка для твердофазного гидролиза β -галактозидов (лактозы).

Конкретными этапами на пути создания подобных белковых конструкций является получение бактериального штамма-продуцента, обеспечивающего экспрессию целевого рекомбинантного белка; наработка целевого белка, получение субстрат-белкового комплекса для гидролиза бета-галактозидов, изучение его физико-химических свойств и ферментативной активности.

4. Morisaki H., Igarashi T., Yamamoto A., Goto N. Department of Oral Microbiology, Showa University School of Dentistry, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan, Letters in Applied Microbiology 2002; 35: 223–227.
5. Hashimoto M., Ikegami T., Seino S. et al. Department of Biosystem Science, Kyoto, Japan, Journal of Bacteriology 2000; 11: 3045–3054.
6. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология (принципы и применение). М.: 2002; 158–330.