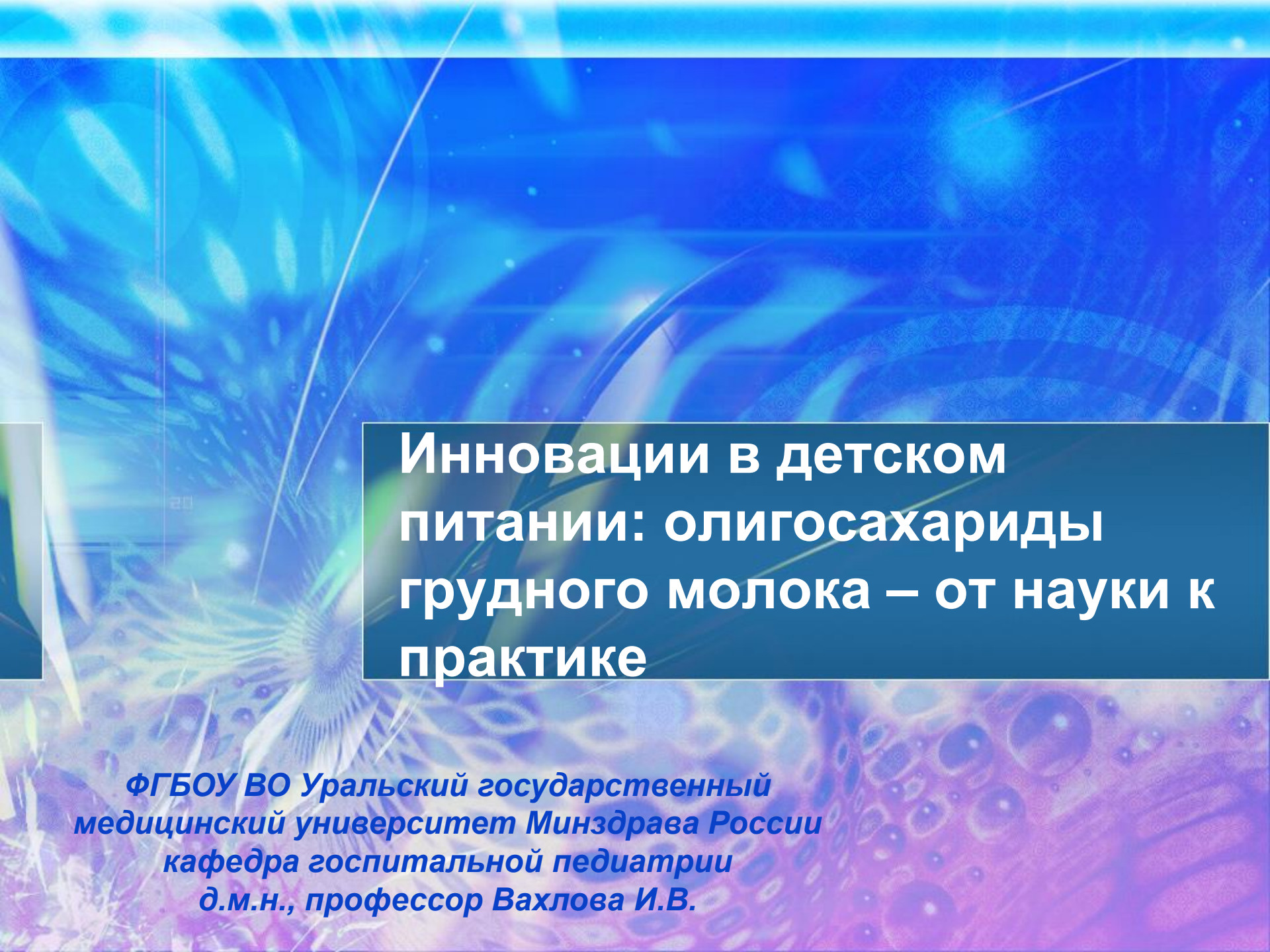
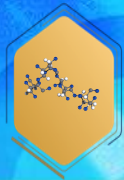




Инновации в детском питании: олигосахариды грудного молока – от науки к практике

*ФГБОУ ВО Уральский государственный
медицинский университет Минздрава России
кафедра госпитальной педиатрии
д.м.н., профессор Вахлова И.В.*



История открытия ОГМ

Основные вехи в исследовании углеводов ГМ (ОГМ)

около 1900

- Первое описание микроорганизмов (*Lactobacilli*, *Bifidobacteria*) (Theodor Escherich)
- Наблюдения: различный состав фекальной микробиоты у детей на ГВ и ИВ (Ernst Moro)
- Понимание разницы в **углеводном** составе грудного молока и ДМС (Georges Denigès)

В 1926

Герберт Шонфельд (Herbert Schönfeld) выдвинул теорию о том, что грудное молоко содержит фактор роста для *Lactobacillus bifidus* (позднее этот штамм отнесен к *Bifidobacterium bifidus*)

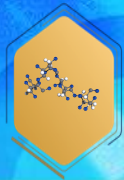
с 1930

- Характеристика первых ОГМ (Michel Polonowski, Albert Lespagnol, Jean Montreuil), «gynolactose»

1950 до 1980

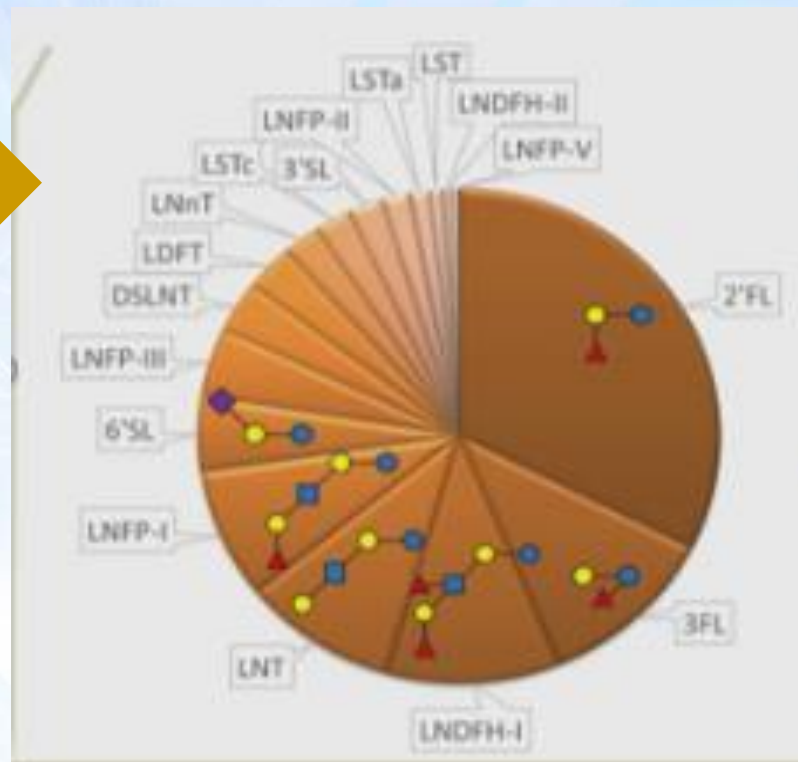
- Идентификация других ОГМ и функциональные исследования (Richard Kuhn, Paul György)
- ОГМ как фактор роста для микроорганизмов (*Bifidobacteria*), анти-адгезивные и противовоспалительные свойства
- Метод масс-спектрометрии с бомбардировкой ускоренными атомами, картирование и секвенирование ОГМ (Heinz Egge)





Олигосахариды грудного молока – структурная часть углеводов ГМ

Состав грудного молока

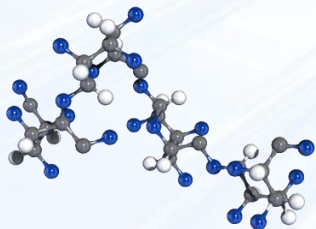


- ✗ Содержание фракции ОГМ количественно превосходит белок (содержание которого обычно 8 г/л)^{1,2}; поэтому ОГМ можно считать ключевым компонентом ГМ.¹
- ✗ ОГМ концентрация составляет 20–25 г/л в молозиве² и 5–15 г/л в зрелом молоке.¹

Олигосахариды грудного молока

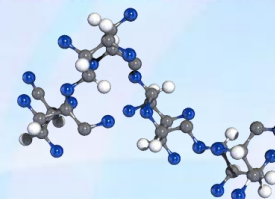
4 важных обстоятельства:

- ОГМ не имеют нутритивной ценности
- ГМ человека – самый богатый источник олигосахаридов среди всех млекопитающих: в 1000 раз больше, чем в коровьем молоке
- Фракция ОГМ – на 3 месте по величине после лактозы и жиров в ГМ человека
- 10 % из 500 калорий, которые лактирующая женщина расходует ежедневно для секреции молока, затрачиваются на синтез большого количества ОГМ, которые не имеют нутритивной роли.

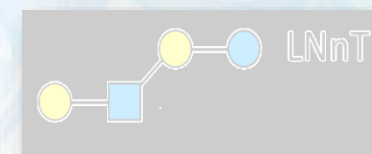
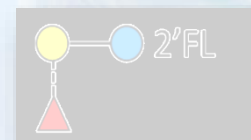


Определяют важную роль в формировании здоровья младенца, возможно, для некоторых аспектов жизнедеятельности человека - исключительную

Биохимическая структура ОГМ



ОГМ чаще содержат **лактозное ядро** (= дисахарид из глюкозы [Glc] и галактозы [Gal])^{2,3}, которое элонгируется одним или несколькими моносахаридами^{1,4}



1 Bode, Glycobiology 2012;
2 Jantscher-Krenn et al. Minerva Pediatr 2012;
3 Blank 2012

http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2012/8661/pdf/BlankDennis_2012_03_02.pdf

Биохимическая структура ОГМ

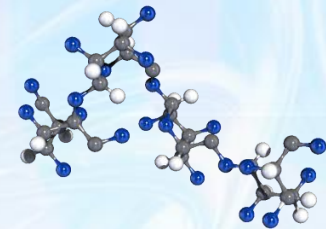
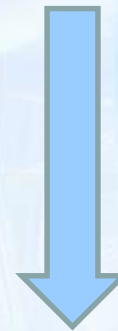
Лактозное ядро

(= дисахарид из глюкозы [Glc] и галактозы [Gal])^{2,3}



Малые ОГМ

Самые маленькие ОГМ
состоят из лактозы и 1
или 2 добавочного
моносахара



Более сложные ОГМ

Для образования более сложных ОГМ,
лактоза элонгируется от 1 до 15 блоками
Лакто-N-биозы или N-ацетилглюкозамина

Биохимическая структура ОГМ

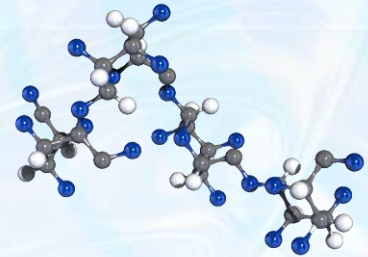
Более 200 идентифицированных ОГМ

3 группы ОГМ в зрелом молоке женщин при доношенной беременности



Олигосахариды грудного молока

Присоединение к лактозному кольцу разных моносахаров в разных сочетаниях, с несколькими повторами позволяет предположить

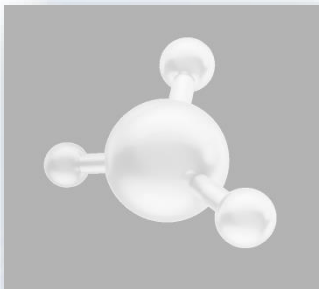


**Функции разных ОГМ являются структурно-специфическими:
ОГМ разных групп выполняют разные функции и
взаимодополняют друг друга**

ОГМ $\neq$ GOS и FOS

GOS и FOS:

- традиционные пребиотики, добавляемые в детские молочные смеси
- имеют простую формулу: GOS – цепочка галактозы + глюкоза на терминальном окончании; FOS – цепочка фруктозы + глюкоза на терминальном окончании
- отсутствуют в структуре **фукоза, сиаловая кислота или N-ацетил-глюкозамин**, обязательные компоненты ОГМ.



Отсутствие биоактивности, свойственной ОГМ, не обладают избирательным влиянием на микробиоту, в отличие от ОГМ

Факторы, влияющие на содержание олигосахаридов в грудном молоке

- Гестационный возраст беременности
- Нутритивный статус матери
- Продолжительность лактации
- Прием медикаментов
- И др

Наличие фукозилированных ОГМ генетически детерминировано:

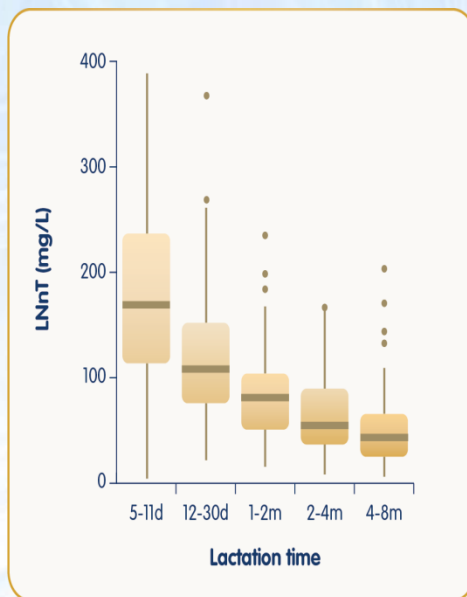
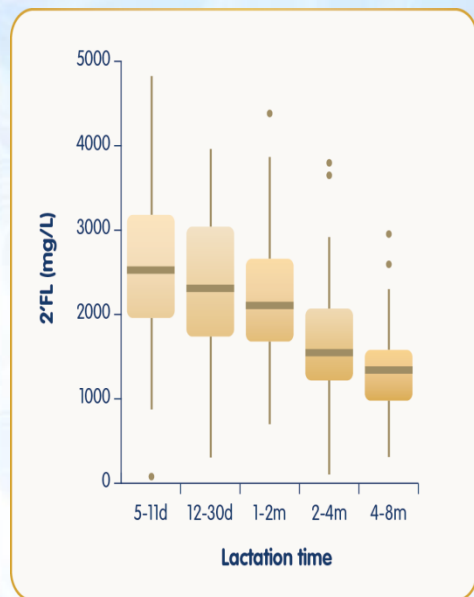
- Наиболее выраженные вариации структуры ОГМ основаны на секреторном статусе матери: только молоко Se+ женщин богато 2'FL.
- *Более 70% женщин европейской популяции имеют Se+ тип*

1 Bode et al. Adv Nutr 2012; 2 Goehring et al. Plos One 2014; 3 Blank et al. Adv Nutr 2012;
4 Morrow et al. J Nutr 2005; 5 Urashima et al. Adv. Nutr. 2012; 6 Jantscher-Krenn et al. Minerva Pediatr
2012; 7 Newburg et al. Glycobiology 2004



Содержание ОГМ в динамике лактации

2'FL и LNaT уровни в грудном молоке (исследование MING, Китай)



Анализ 446 образцов ГМ (по 88 в период 8-11 и 12-30, 90 в период 1-2, 2-4 и 4-8 месяцев) от матерей из трех разных городов Китая (Beijing, Guanzhou, Suzhon):

Медиана уровня 2'FL составляла:

- 2 г/л в 1 месяц лактации.
- 1,3 г/л в 2-4 месяца.
- 1,2 г/л в 4-8 месяца.

Уровень LNaT составил:

- от 110 до 210 мг/л в 1 месяц.
- 50 - 100 мг/л в 4 месяца
- 40 мг/л в 4-8 месяцев.

Box plots with medians and minimum and maximum levels are plotted.
Only breast milk samples with measureable 2'FL levels are shown.

Метаболизм ОГМ

- Сохраняют устойчивость в кислой среде желудка
- Устойчивы к панкреатическим ферментам
- Устойчивы к кишечным ферментам

Достигают дистальных отделов кишечника

Предположительно:

- ☐ Утилизируются КМБ
- ☐ Влияют на процесс становления КМБ
- ☐ Приблизительно 1%- 2% ОГМ абсорбируется в тонком и толстом кишечнике и включается в системный кровоток



Местный эффект - на уровне кишечника



Системный эффект (?)

Влияние на иммунитет ОГМ

■ Прямое
влияние на
иммунитет



■ Непрямое влияние
на иммунитет –
через КМБ

Достижение максимальной защиты новорожденного ребенка

Непрямое влияние на иммунитет ОГМ

ОГМ – метаболический субстрат для определенных бактерий, напр. *Bifidobacterium longum subsp. infantis*.

Бифидобактерии вырабатывают ферменты, расщепляющие ОГМ:

☀ α -фукозидаза, ☀ α -сиалидаза, ☀ β -галактозидаза, ☀ β -N-гексоминидаза

Затем утилизируют их, растут и осуществляют иммунные функции:

- ↑ Продукцию противовоспалительных ЦК
- ↑ Сохраняют целостность кишечной стенки
- ↑ Продуцируют бактериоцины
- ↑ Продуцируют метаболиты, снижающие pH
- ↑ Влияют на «переключение» Th2 в Th1, что приводит к сбалансированному Th1/Th2 ответу
- ↑ Увеличивают экспрессию генов, ответственных за продукцию белков плотных сочленений

Пребиотический эффект ОГМ является структурно-специфичным: разные микробы утилизируют разные ОГМ.

Прямое влияние на иммунитет ОГМ



- Антиадгезивные свойства
- Антимикробные свойства
- Сохранение целостности кишечного барьера
- Снижение продукции провоспалительных ЦК (IL-1 β и IL-6)
- Прямое иммуномодулирующее влияние
- Действие на иммунные клетки посредством лиганд
- Влияние на экспрессию генов



Антиадгезивное действие ОГМ

Близкие по структуре к
клеточным рецепторам

Связываются с ними на
поверхности эпителиоцитов

Место защищено от адгезии
патогенов

На грудном вскармливании
частота инфекционных
гастроэнтеритов ниже

Разная структура определяет:
- взаимодействие с разными
рецепторами (клетки, патогены)
- стимулирование роста разных
бактерий

Связываются с рецепторами на
самих м/о – бактериях, вирусах

Ингибируют E.coli, стрептококки гр. В,
вирион холеры, сальмонеллы, Ps.
aeruginosa, Norovirus, Rotavirus,
Campylobacter jejuni, enteropathogenic E.
Coli и др

Использование смесей с ОГМ – 2FL (2-
фукозиллактоза) и LNnT (лактоN-
неотетраоза) снижают частоту и риск
развития инфекционных заболеваний,
инфекционных гастроэнтеритов у детей
грудного возраста

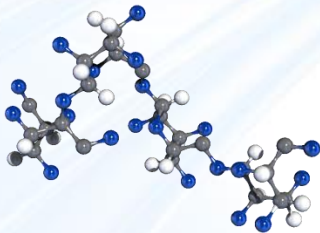
Один ОГМ не может блокировать адгезию
всех патогенов, поэтому в ГМ ОГМ так
разнообразны

Антимикробное действие и барьерная функция ОГМ

Антимикробный эффект ОГМ связан с наличием в их структуре фукозы, сиаловой кислоты или N-ацетилглюкозамина



Поэтому не может быть связан с действием GOS и FOS



Влияние ОГМ на барьерную функцию кишечника (доказано в эксперименте):

- ↑ дифференциации клеток кишечника
- ↑ активности ферментов кишечника
- ↑ активности каспазы (показатель апоптоза) – активности процессов роста и обновления энтероцитов
- ↑ большая плотность (меньшая проницаемость) кишечной стенки
- ↑ изменение экспрессии генов процессов, ответственных за созревание кишечной стенки и повышение устойчивости к инфекции



Этот эффект строго специфичен, является структурно-зависимым и не ассоциирован с GOS и FOS

Изменение продукции про- и противовоспалительных ЦК под влиянием ОГМ

Под влиянием ОГМ ↑ рост и активность бифидофлоры

Производство КЖК

Влияние на экспрессию генов с подавлением продукции провоспалительных ЦК – IL-1, IL-6, TNF-α

Экспрессия mRNA про- и противовоспалительных цитокинов зависит от дозы ОГМ – дозозависимый эффект действия ОГМ: более высокая дозировка увеличивает действие ОГМ (2FL)

Снижение активности воспаления

ОГМ – уникальный компонент грудного молока



Сложность и вариабельность строения, структурное разнообразие не позволяют полностью воспроизвести состав ОГМ в детских молочных смесях

ОГМ – уникальный компонент грудного молока

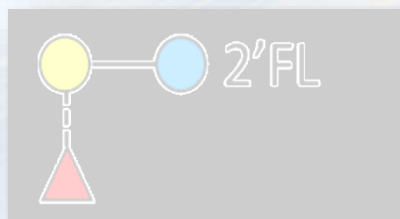
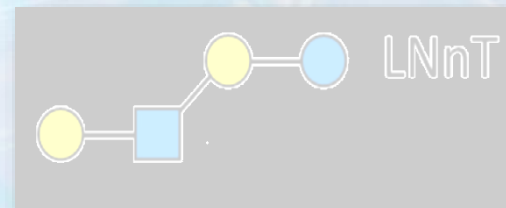


Долгое время этот компонент считался не воспроизводимым

НМО — Олигосахариды Грудного Молока



Удалось полностью идентифицировать и воспроизвести два ОГМ –
2-фукозиллактоза и лакто-N-неотетраоза и
ввести их в состав смесей в количествах, соответствующих реальному содержанию в ГМ





Одобренная EFSA и FDA безопасность 2'FL и LNnT



EFSA (European Food Safety Authority) одобрила безопасность 2'FL и LNnT^{1,2}:

- Для детей (≤ 1 года) обогащение стартовой смеси (IF) последующей смеси (FUF) в концентрации до 1.2 г/л 2'FL и до 0.6 г/л LNnT, в соотношении 2:1.
- Для детей раннего возраста (> 1 года) обогащение последующей смеси и молочка в концентрации до 1.2 г/л 2'FL (изолированно или в комбинации с LNnT в концентрации до 0.6 г/л, в соотношении 2:1).

FDA (US Food and Drug Administration) не имеет возражений по присвоению статуса GRAS для 2'FL и LNnT в качестве ингредиента смесей для доношенных детей.^{3,4}



- FDA заключил на основании всех имеющихся данных и информации, что у него нет вопросов относительно заключения о том, что 2'FL, а также LNnT являются GRAS (Generally Recognized as Safe - общепризнанными как безопасные) в соответствии с предполагаемыми условиями использования.

Клинические исследования

- Влияние детской молочной смеси с ОГМ на рост и заболеваемость: рандомизированное мультицентровое исследование (Италия, Бельгия)

Russio G, Alliet Ph, Cajazzo C, et. Al., 2017

Цель: Изучить влияние вскармливания смесью с 2 ОГМ (2' FL и LNnT) на рост и иммунитет у младенцев.

Выводы: Вскармливание детской молочной смесью с 2 ОГМ (2'FL and LNnT) на протяжении 6 месяцев жизни

- ✗ безопасно,
- ✗ имеет хорошую переносимость,
- ✗ обеспечивает соответствующий возрасту рост,
- ✗ способствует снижению заболеваемости (бронхиты, инфекции НДП) у детей и уменьшает частоту использования медикаментов у детей до 12 месяцев.



Клинические исследования

Детская смесь с олигосахаридами, идентичными содержащимся в грудном молоке, (2'FL and LNnT) осуществляют сдвиг состава кишечной микробиоты и ее метаболического профиля в сторону, сходную с показателями детей на ГВ (*Италия, Бельгия*)

Steenhout Ph, Sperisen P, Martin F-P, Sprenger N, Wernimont S, Pequet S, Berger B. , 2016

Цель: Изучить влияние вскармливания смесью, обогащенной 2-мя ОГМ (2'FL и LNnT), на становление кишечной микробиоты у младенцев.

Выводы:

- ✗ Состав кишечной микробиоты у детей, получающих смесь с 2'FL и LNnT, имел существенные отличия ($p < 0,001$) от микробиоты детей, получающих необогащенную смесь и был приближен к составу микробиоты у детей на ГВ в 3 месяца.
- ✗ Доминирование полезных Bifidobacterium ($p < 0,01$); меньшее содержание потенциально патогенных Escherichia ($p < 0,01$) и не классифицируемых Peptostreptococcaceae ($p < 0,05$) наблюдалось у детей, получающих смесь с 2'FL и LNnT по сравнению с детьми, получающими не обогащенную смесь; результаты первой группы приближены к показателям детей на ГВ.

Кишечная микробиота у доношенных младенцев, вскармливаемых смесью с ОГМ, и снижение вероятности использования антибиотиков (*Италия, Бельгия*)

Berger B, Grathwohl D, Alliet Ph, Puccio G, Steenhout Ph, Sprenger N., 2016

Цель: Изучить взаимосвязь между составом кишечной микробиоты и заболеваемостью и использованием лекарственных препаратов у детей, вскармливаемых смесью с 2-мя ОГМ (2'FL и LNnT)

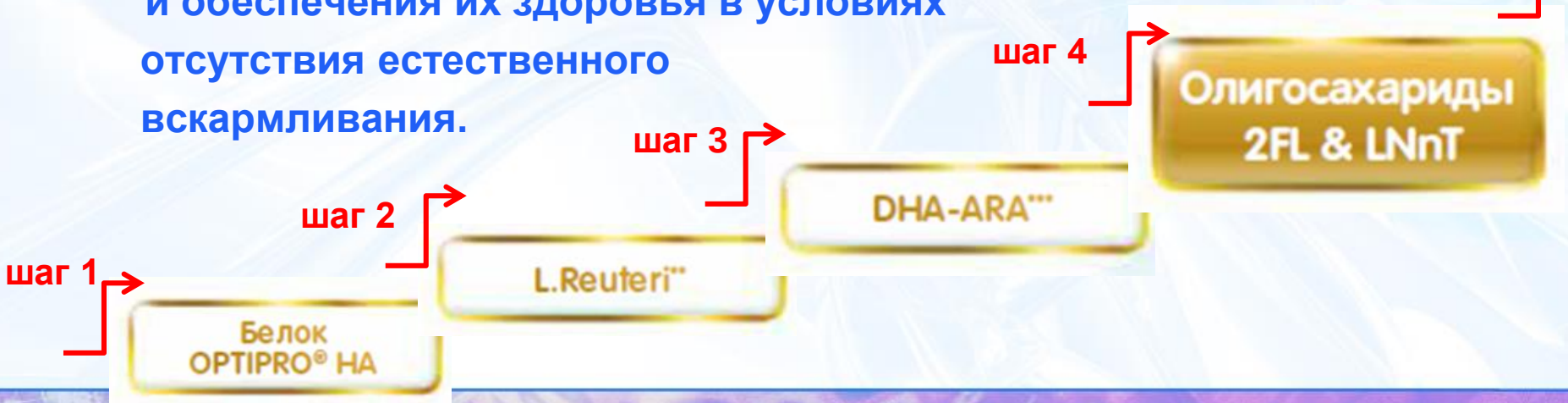


«Нет предела совершенству...»

- ✦ Создание олигосахаридов, идентичных ОС грудного молока – прорыв в усовершенствовании состава смесей
- ✦ Включение в состав современной детской молочной смеси комплекса из двух олигосахаридов – представителей двух разных групп ОГМ в концентрации, приближенной к их содержанию в грудном молоке, - реальный шаг на пути совершенствования молочных смесей для младенцев и обеспечения их здоровья в условиях отсутствия естественного вскармливания.



шаг 5 ?





Благодарю за внимание!