

На правах рукописи

КЛОЧКОВА ГАЛИНА НИКОЛАЕВНА

**БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖЕНСКОГО МОЛОКА В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ
ОРГАНИЗМА**

03.01.04 - биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Белгород 2012 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего профессионального образования Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Шапошников Андрей Александрович

Научный консультант: доктор медицинских наук
Пахомов Сергей Петрович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Смахтин Михаил Юрьевич
ГБОУ ВПО Курский государственный
медицинский университет

кандидат биологических наук, доцент
Яковлева Инесса Николаевна
ФГАОУ ВПО Белгородская государственная
сельхозакадемия им.В.Я.Горина

Ведущая организация:
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»

Защита диссертации состоится «26» декабря 2012 года в 15 час. на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 212.015.12 при ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет», по адресу 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАОУ ВПО Белгородский государственный национальный исследовательский университет по адресу 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85.

Автореферат разослан «_____» _____ 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук, доцент

Н.Г. Габрук

Актуальность работы. Сохранение и укрепление здоровья населения Российской Федерации является наиболее важной проблемой национальной политики [Путин В.В., 2009]. Здоровье человека закладывается с первых дней жизни. В это время решающее влияние на формирование организма новорожденного оказывает его питание. Самым оптимальным в этот период является естественное грудное вскармливание, которое было сформировано в ходе биологической эволюции млекопитающих и является единственным физиологически адекватным питанием новорождённого и грудного ребёнка [Абуева З.М., 2009; Анастасевич Л.А., Киселева Е.С. и др. 2010].

Материнское молоко содержит все необходимые ребенку вещества, соответствует особенностям его пищеварительной системы и обмена веществ, формирует его иммунитет, обеспечивает адекватное развитие детского организма. В состав молока входят пищевые нутриенты: вода, белки, углеводы, липиды, свободные аминокислоты, нуклеотиды, жиро-, водорастворимые витамины, макро- и микроэлементы, а также другие биологически активные соединения: гидролитические ферменты, антитела, гормоны, простагландины и бифидус-факторы. [Обгольц А.А., 2000; Петров А.Н. и др., 2006; Гутикова Л.В., 2007; Городенчук З., 2009; Конюченко Е.А. и др., 2010; Конь И.Я. и др., 2011]. [Анастасевич Л.А., 2010; Гутикова Л.В., 2007; Петров А.Н. и др., 2006].

Известно, что женское молоко существенно отличается по количественному и качественному составу от молока других млекопитающих. За последние 50 лет получены обширные данные о содержании в женском молоке белка и его фракций, липидов, углеводов, а также минеральных солей и некоторых витаминов; изучена роль этих нутриентов, установлено, что состав женского молока зависит от многих факторов. Работы в этом направлении проводились в разных регионах Российской Федерации, отличающихся климатическими, экономическими и другими внешнесредовыми факторами. Приводимые данные противоречивы, не учитывают индивидуальных различий женщин, а в изменившихся современных условиях жизни являются устаревшими. Отсутствуют данные по содержанию в женском молоке иммуноглобулинов различных классов.

Определение биохимического состава женского молока в современных условиях конкретного региона, предложение наиболее оптимальных и точных методов, а также установление возможных факторов, оказывающих влияние на качество женского молока, являются актуальными в практической медицине, не имеют полного отражения в доступной научной отечественной и зарубежной литературе и, следовательно, требуют дальнейшего изучения.

Все вышесказанное послужило причиной для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: разработка новых подходов к оценке биохимического состава женского молока и определение влияния физиологического статуса родильницы на его динамику.

Для достижения поставленной цели было предусмотрено решение следующих **задач**:

1. Разработать способ пробоподготовки женского молока для анализа на современном аналитическом оборудовании клиничко-диагностических лабораторий лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ);
2. Провести мониторинг биохимического состава молока у женщин Белгородской области;
3. Определить динамику биохимического состава женского молока при естественном родоразрешении и путем кесарева сечения;
4. Установить действие различных внешнесредовых (год, сезон, паритет) и физиологических факторов (возраст, группа крови, тип родоразрешения, экстрагенитальная патология и осложнения течения беременности) на биохимический состав молока;
5. Определить средние и референтные значения биохимических составляющих молока и предложить их в качестве нормы в сложившихся физиологических и социальных условиях для практического здравоохранения.

Научная новизна работы. Впервые с использованием современных анализаторов, предназначенных для биохимических и иммунологических исследований сыворотки или плазмы крови, мочи человека получены данные по концентрации общего белка и его фракций, IgA, IgM, IgG, триацилглицеролов, холестерина, глюкозы, ионов калия, натрия, кальция, фосфора, железа и хлора в молоке женщин. Новыми являются результаты сравнительного анализа молока после естественного родоразрешения и операции кесарева сечения, влияния возраста, группы крови женщин, состояния их здоровья и характера течения беременности. Модифицирован способ пробоподготовки молока для биохимического исследования на анализаторах нового поколения (Cobas E 411, Olympus и их аналогов).

Определены нормальные средние и референтные значения основных биохимических параметров женского молока на первые сутки лактации, пятые сутки и шесть месяцев после естественных родов и операции кесарево сечение.

Практическая значимость работы.

Предложен способ пробоподготовки молока для биохимического анализа с целью нивелирования факторов, снижающих точность определения.

Определены материнские и внешнесредовые факторы, влияющие на качественный состав молока у женщин, что используется в педиатрической практике для коррекции грудного вскармливания.

Практическому здравоохранению предложены параметры биохимического состава женского молока на первые сутки лактации, пятые сутки и шесть месяцев после естественных родов и операции кесарево сечение.

Положения, выносимые на защиту:

1. Состав молока женщин различных регионов Белгородской области стабилен у женщин близких по возрасту и физическому состоянию.
2. Биохимические показатели молока имеют различия в зависимости от внешнесредовых факторов и физиологического состояния родильницы.
3. Вид родоразрешения влияет на уровень иммуноглобулинов и не оказывает влияния на содержание остальных биохимических составляющих женского молока.

Апробация работы. Результаты работы доложены: на V Международной (XIV Всероссийской) Пироговской студенческой научной медицинской конференции (Москва, 2009), на Всероссийской конференции с международным участием «Охрана репродуктивного здоровья – будущее России» (Белгород, 2010), на Всероссийской конференции «Репродуктология: новые технологии, проблемы, перспективы» (Белгород, 2010), на итоговой конференции ученых Курского государственного медицинского университета в 2011г., на заседании областного общества акушеров-гинекологов (2010); на международной конференции «Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии» (Судак, 2012 г.); на заседании проблемной комиссии “Актуальные вопросы акушерства и гинекологии” (Белгород, 2012 г.), расширенном заседании кафедры биохимии и фармакологии НИУ «БелГУ» (2012).

Публикации результатов: по теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе четыре - в изданиях ВАК РФ и одна - ВАК Украины, а также учебное пособие с грифом УМО. Для пользователей компьютеров разработан электронный учебник, имеющий свидетельство об отраслевой регистрации разработки ОФЕРНИО.

Внедрение в практику. Результаты работы по определению качественного состава женского молока, определению факторов, влияющих на состав и молока и характер лактации, внедрены в работу женских консультаций, родильных домов Белгородской области, кафедр педиатрии, акушерства и гинекологии, биохимии и фармакологии Белгородского государственного университета.

Структура и объем диссертации. Работа написана на 141 странице машинописного текста, иллюстрирована 68 таблицами, 5 рисунками и содержит 5 приложений. Список используемой литературы состоит из 273 источников: 208 отечественных и 65 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа над диссертацией начата в 2005 году и заключалась в анализе научной литературы, формировании темы и задач исследования, созданию современной материально – технической базы для его выполнения.

Настоящему исследованию предшествовало сотрудничество с кафедрами биохимии и фармакологии медицинского факультета, общей химии биолого-химического факультета НИУ «БелГУ». Результатом такого сотрудничества стали текстовый вариант учебного пособия по химии (гриф УМО, 2006) и

электронная версия этого пособия с подтвержденным правом на интеллектуальную собственность. В этот период формировалось направление, обсуждались задачи исследования и пути их решения, шло освоение новых современных анализаторов, методов работы с биологическими жидкостями, велась работа с научной литературой. Экспериментальная и оформительская части работы были выполнены в период с 2009 по 2012 год. Исследования проводили на кафедре биохимии и фармакологии медицинского факультета, общей химии биолого-химического факультета НИУ «БелГУ», на базе клинко-диагностической лаборатории Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа (лицензия № ФС-99-01-005907 на проведение клинической лабораторной диагностики от 13.01.2009) и Белгородского областного перинатального центра.

Все биохимические исследования были выполнены на оборудовании, имеющем свидетельства о метрологической поверке.

Объектом исследования были беременные женщины и родильницы города Белгорода и Белгородской области. Каждая женщина была полностью проинформирована о виде проводимого исследования и подписала информированное согласие на исследование.

Исследование включало ряд последовательных этапов (рис.1).

На первом этапе проводили отбор пациентов для исследования по следующим критериям, соответствующим нормально протекающей беременности: отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии (сердечно-сосудистая система, мочевыделительная система, дыхательная система, эндокринная система); отсутствие осложнений течения беременности, тяжелых форм (гестоз, анемия); родоразрешение на сроках 39-40 недель.

На следующем этапе исследуемых разделяли на две группы: методом копи-пары. Первая – женщины, у которых планировалось родоразрешение через естественные родовые пути; вторая – женщины, у которых планировалось родоразрешение путем операции кесарева сечения. При этом, показаниями к плановому оперативному родоразрешению были: анатомически узкий таз второй и более степеней, сложные виды миопии, предлежание плаценты, пластические операции на половых органах и др.

На третьем этапе проводили клиническое и лабораторное обследование женщин: изучение анамнеза, антропометрия, морфологические и биохимические анализы крови (до и после родов), биохимическое исследование молока (после родов).

Всего обследовано 243 беременных, отобранных методом случайной выборки. Обследование женщин проводили согласно приказам № 323 и № 50 Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 2007 и 2003 г. соответственно).

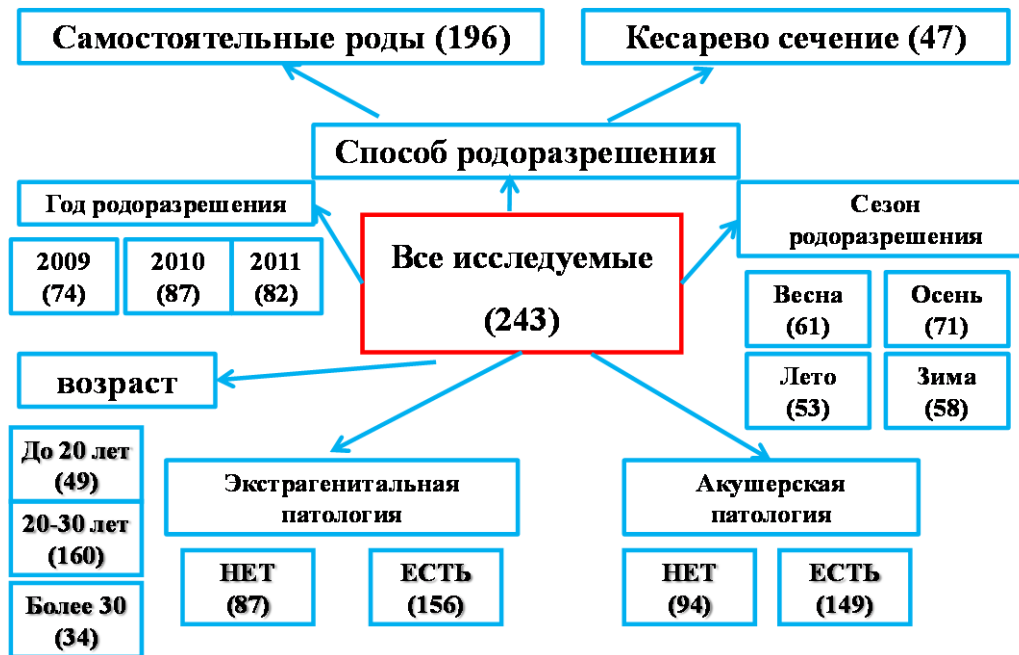


Рисунок 1. Алгоритм проводимого исследования.

Возраст беременных варьировал от 17 до 40 лет ($27,14 \pm 0,34$ лет), количество беременностей в анамнезе составляло от 1 до 7, число родов от 1 до 4, искусственных аборт до 4, самопроизвольных – до 1. Число первобеременных составляло 82 (33,74%), первородящих 148 (60,91%). Из всех обследованных 54 женщины (22,22%) были жителями города Белгорода, 189 (77,78%) женщин являлись жителями сельской местности изучаемой области.

Клинико-лабораторное обследование беременных, т.е. анализ крови и ее сыворотки, проводили в динамике – в 20 недель беременности, непосредственно перед родами, и после. Течение беременности оценивали с момента постановки на учет в женских консультациях по стандартным схемам клинического обследования. Во время работы использовали стандартный набор лабораторных исследований.

После родов также проводили биохимическое исследование молока родильниц. Забор молока проводили путем сцеживания (в присутствии медицинского персонала отделений перинатального центра) в утренние часы (6-7 часов) из правой груди. Для исследования использовали молоко в конце сцеживания в объеме 5-10 мл, которое отбирали в посуду (одноразовый пластиковый контейнер), специально подготовленный в клинической лаборатории. Молоко анализировали на первые сутки лактации и пятые сутки после родов, а также через 6 месяцев после родоразрешения.

Свежее молоко в течение 30 минут после сцеживания доставляли в лабораторию и в течение рабочего дня подвергали анализу. Вместе с

молоком в те же сроки проводили анализ концентрации пролактина в сыворотке крови женщин.

Для мониторинга состава женского молока были использованы стандартные биохимические методики. Предложен и модифицирован способ пробоподготовки молока для получения молочной сыворотки и стандартизации преаналитического этапа лабораторного исследования данной биологической жидкости организма. Уровень холестерина и триацилглицеролов определяли в цельном молоке. Параллельно в крови родильниц определяли уровень пролактина методом иммунохемилюминесценции на анализаторе «Cobas E411» (Германия) с применением наборов реактивов, калибраторов, контролей фирмы Roche (Германия).

Статистический анализ результатов исследования включал получение средних величин соматометрических, клинических, биохимических и других показателей, их ошибки, оценки достоверности с использованием критериев Стьюдента и Фишера.

В работе использовались методы многомерной статистики. Вычислялись коэффициенты множественных корреляций Пирсона.

База данных создавалась и подвергалась первичной обработке в среде Excel-2000 (Microsoft). Многомерный статистический анализ проводился в стандартных прикладных программных пакетах: Excel-2000 (Microsoft), Statistika 5.5 (Statsoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В начале исследования проведен сравнительный анализ индивидуальных параметров женщин (возраст, вес, рост, размеры таза, паритет, состояние и становление менструальной функции).

Было установлено, что достоверных различий по этим показателям между женщинами нет. Следовательно, мы имели полное право сравнивать биохимический состав молока, опустив вышеперечисленные признаки.

Выявлена достоверная зависимость биохимического состава молока от года и сезона родоразрешения. Наиболее значимые различия отмечены в концентрации таких электролитов как ионы калия, кальция, фосфор, железа и хлора (рис.2).

Как видно из представленных показателей K^+ молока на первые сутки в 2009 году был достоверно ниже ($12,90 \pm 0,75$ ммоль/л), чем в 2010 ($14,09 \pm 0,92$ ммоль/л) и 2011 ($15,94 \pm 1,10$ ммоль/л) ($p < 0,05$). На пятые сутки уровень 2009 и 2010 годов различий не имел, но в 2011 его количество достоверно превышало ($17,60 \pm 1,14$ ммоль/л) уровень K^+ в молоке этих лет ($p < 0,05$).

В содержании железа (Fe^{3+}) было установлено более низкое его содержание в молоке на первые сутки в 2010 году ($7,92 \pm 1,33$ мкмоль/л) ($p < 0,05$), и более высокая его концентрация на пятые сутки в 2009 году – $15,05 \pm 1,65$ мкмоль/л в сравнении с другими годами ($p < 0,05$).

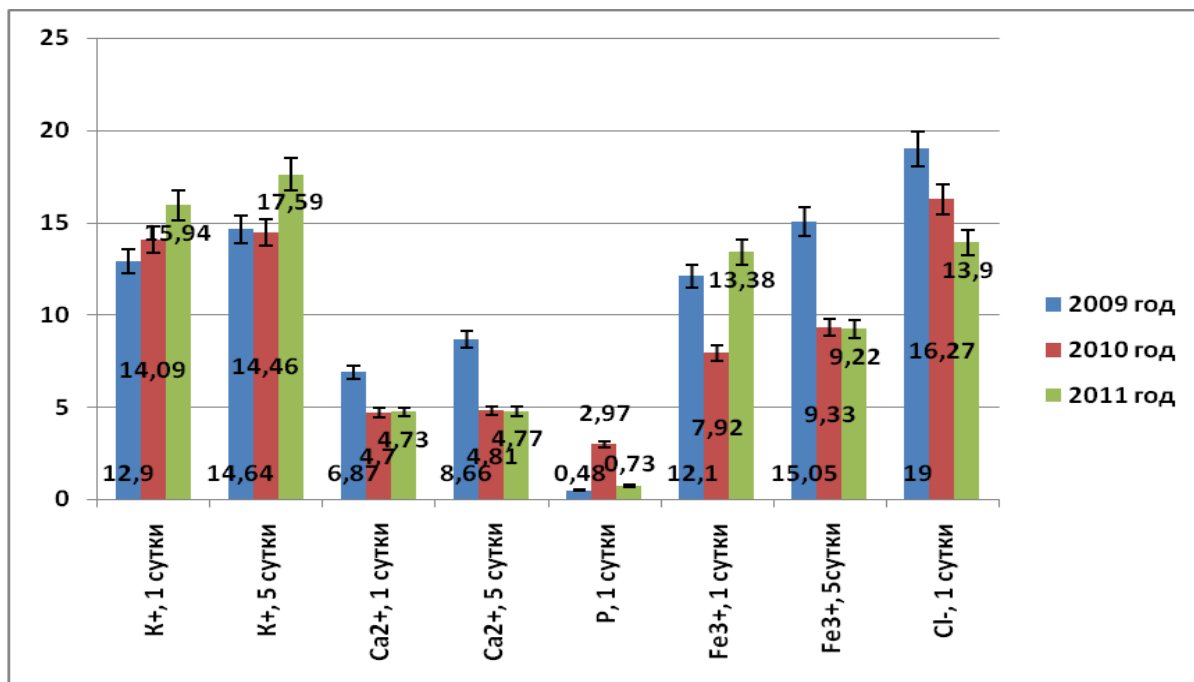


Рисунок 2. Электролитный состав молока на первые и пятые сутки в период 2009-2011 гг.

Отмечены более низкие значения концентрации хлора на первые сутки в 2011 году ($13,90 \pm 3,83$ ммоль/л), чем в 2009 ($19,00 \pm 4,18$ ммоль/л) и 2010 ($16,27 \pm 1,15$ ммоль/л) ($p < 0,05$). На пятые сутки в содержании хлора достоверных различий установлено не было.

В результате пробоподготовки метаболизируемые фракции молока (в основном, казеин), на долю которых приходится 70-75%, переводились в осадок, поэтому в таблице представлены данные по неметаболизируемым фракциям. Необходимо отметить высокое содержание альфа-лактальбумина (от 34,63 до 36,02%) на первые и пятые сутки, что соответствует литературным данным.

Общее содержание белка в разные годы колебалось от 15,40 до 26,91 г/л.

Из представленных в таблице результатов видно, что уровень общего белка молока на первые сутки был достоверно ниже в 2009 году ($15,40 \pm 0,90$ г/л), чем в 2010 ($21,97 \pm 1,80$ г/л) и 2011 ($26,91 \pm 4,60$ г/л) годах ($p < 0,05$). На пятые сутки уровень общего белка находился примерно на одном уровне.

В концентрации альфа-лактальбумина и бета-лактальбумина молока ни на первые, ни на пятые сутки достоверных различий в разные годы установлено не было.

Таблица 1

Уровень белков, белковых фракций и иммуноглобулинов различных классов в молоке женщин в разные годы родоразрешения.

Показатели	Mx			Достоверность различий (t-критерий)		
	2009 год N=74	2010 год N=87	2011 год N=82	t-09-10	t-10-11	t-09-11
Общий белок молока 1-е сутки, г/л	15,40*	21,97	26,91	-2,75*	-1,41	-1,91
Общий белок 5-е сутки, г/л	16,80	17,91	17,09	-0,88	0,90	-0,22
Альфа-лактальбумин 1-е сутки, %	35,52	34,66	34,63	0,26	0,02	0,28
Альфа-лактальбумин 5-е сутки, %	35,97	35,96	36,02	0,00	-0,03	-0,02
Бета-лактальбумин 1-е сутки, %	16,43	15,60	16,37	0,42	-0,64	0,03
Бета-лактальбумин 5-е сутки, %	15,42	16,72	16,45	-0,75	0,31	-0,57
Гамма-глобулины 1-е сутки, %	37,66	41,09	39,72	-1,27	0,77	-0,72
Гамма-глобулины 5-е сутки, %	47,18	44,54	39,72*	1,16	2,61*	2,45*

Здесь и далее: * - различия достоверны ($p < 0,05$)

По содержанию гамма-глобулинов в молоке на первые сутки достоверных различий не установлено, но на пятые сутки в 2011 году отмечено снижение их уровня до $39,73 \pm 2,21\%$, в отличие от 2009 ($47,18 \pm 1,69\%$) и 2010 ($44,54 \pm 1,55\%$) ($p < 0,05$).

Методом иммунотурбидиметрии определено содержание иммуноглобулинов различных классов в молоке за 2009-2011 гг. (Рис.3) Достоверных различий в содержании IgG на первые и пятые сутки не обнаружено, достоверно не меняется их концентрации за период исследования. Уровень IgM на первые сутки был достоверно ниже в 2010 году ($0,71 \pm 0,09$ г/л), а на пятые сутки низкое содержание его отмечалось в 2009 ($0,18 \pm 0,04$ г/л) в сравнении с другими годами ($p < 0,05$). В концентрации IgA было достоверно установлено более высокое его содержание на первые сутки в 2009 году ($6,78 \pm 2,01$ г/л), чем в 2010 ($2,86 \pm 0,63$ г/л) и в 2011 ($2,46 \pm 0,42$ г/л) ($p < 0,05$). На пятые сутки подобная тенденция в 2009 году сохранялась, но не достигала уровня достоверности.

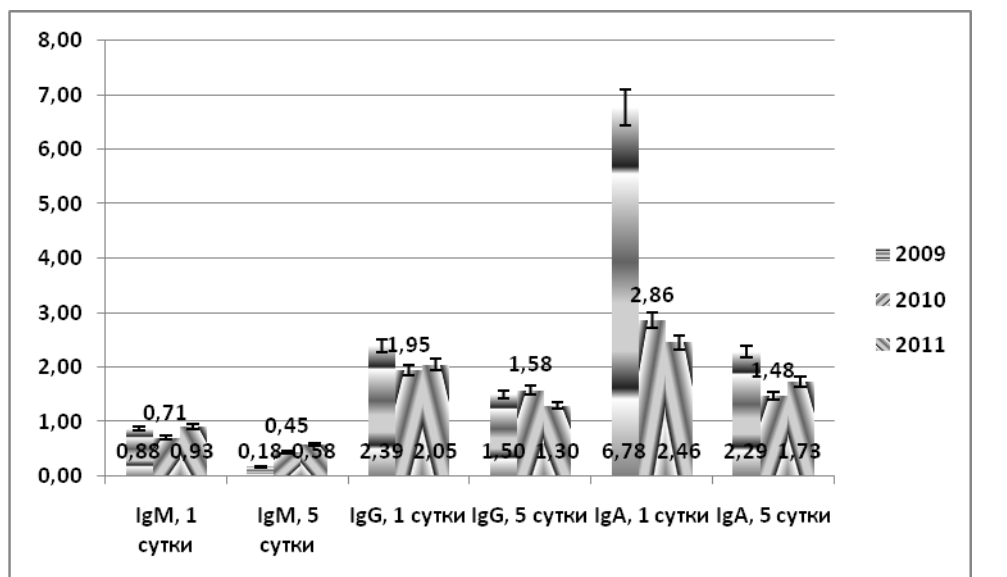


Рисунок 3. Содержание иммуноглобулинов в молочной сыворотке на 1 и 5 сутки за период 2009-2011 гг.

Липидный состав женского молока представлен триглицеролами, фосфолипидами, жирными кислотами, стеролами. В таблице 2 приведены данные по содержанию холестерина и триацилглицеролов в зависимости от года родоразрешения.

Таблица 2
Уровень липидов молока у женщин в разные годы родоразрешения

Показатели	Mx			Достоверность различий (t-критерий)		
	2009 год N=74	2010 год N=87	2011 год N=82	t-09-10	t-10-11	t-09-11
Холестерол молока 1-е сутки, ммоль/л	1,12	0,72	0,62*	1,94	0,77	2,54*
Холестерол молока 5-е сутки, ммоль/л	0,86	0,60	0,39*	1,95	2,80*	3,99*
Триглицеролы молока 1-е сутки, ммоль/л	5,24	8,44	5,49*	-1,59	2,33*	-0,19
Триглицеролы молока 5-е сутки, ммоль/л	12,93	10,59	7,33*	1,36	3,19*	4,52*

Интересным оказался факт, что уровень холестерина и триацилглицеролов женского молока на первые и пятые сутки в 2011 году, был значительно ниже других лет.

Через шесть месяцев после родов достоверных отличий в биохимическом составе молока у женщин в разные годы выявлено не было.

Важным в настоящем исследовании являлось установление сезонных колебаний биохимического состава грудного молока.

Полученные результаты свидетельствуют, что значительным колебаниям подвержены электролиты (Рис.4). Так, содержание K^+ в молоке на первые сутки летом ($16,75 \pm 1,00$ ммоль/л) значительно превышало его содержание в другие сезоны года ($p < 0,05$). Эта же ситуация имела место и на 5 сутки: летом уровень K^+ составлял $19,29 \pm 1,02$ ммоль/л, а зимой, весной и осенью значительно ниже – $13,82 \pm 0,90$ ммоль/л, $14,30 \pm 0,91$ ммоль/л, $15,03 \pm 1,10$ ммоль/л соответственно ($p < 0,05$).

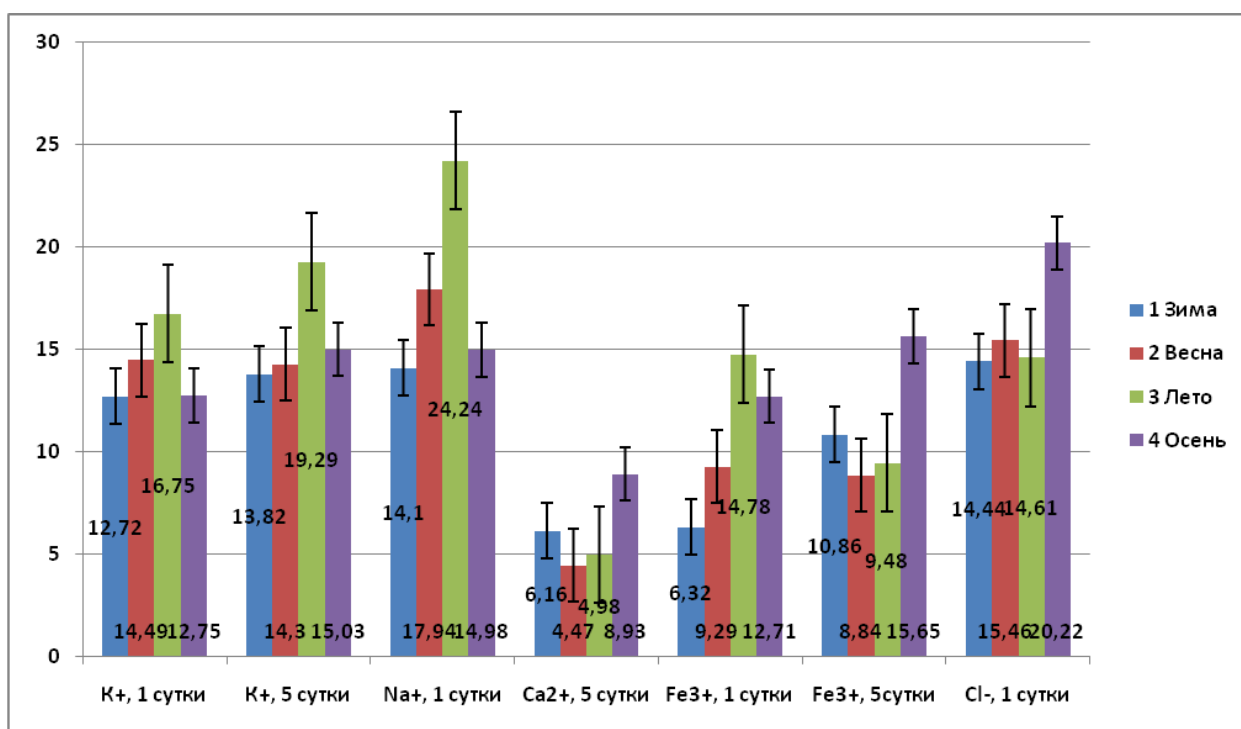


Рисунок 4. Сезонные колебания концентрации электролитов в женском молоке, ммоль/л, мкмоль/л (Fe^{3+}).

Содержание Na^+ в первые сутки в летний период практически на 10,00 превышало такие значения зимой, весной и осенью, составляя $24,24 \pm 0,80$ ммоль/л ($p < 0,05$). К пятым суткам различия в концентрации Na^+ в молоке не отмечались.

Уровень Ca^{2+} в грудном молоке не имел достоверных различий на первые сутки в различные сезоны. Но к пятым суткам отмечалось достоверное преобладание его в зимний ($6,16 \pm 0,45$ ммоль/л) и осенний ($8,93 \pm 1,30$ ммоль/л) периоды в сравнении с весенним и летним ($p < 0,05$).

Содержание железа (Fe^{3+}) на первые сутки было достоверно выше летом ($14,78 \pm 0,82$ мкмоль/л) и осенью ($12,71 \pm 2,20$ мкмоль/л) в отличие от весны и зимы ($p < 0,05$). К пятым суткам подобная тенденция отмечалась

только в осенний период ($15,65 \pm 1,30$ мкмоль/л), а летом его уровень не отличался от других сезонов ($p < 0,05$).

По содержанию хлорид-иона (Cl^-) было отмечено достоверное его увеличение в первые сутки осенью до $20,22 \pm 4,50$ ммоль/л, что превышало его содержание в другие сезоны на 5-6 ммоль/л ($p < 0,05$).

Содержание общего белка в молоке в первые сутки летом ($30,68 \pm 3,00$ г/л) значительно превышало его уровень в другие сезоны ($p < 0,05$).

Изучение концентрации гамма-глобулинов позволило сделать заключение, что в осенний период на первые сутки их уровень был достоверно ниже ($36,03 \pm 1,91\%$), чем в другие сезоны, но к пятым суткам его содержание увеличивалось почти на 30 % и достигало $47,42 \pm 1,81$ % и становилось достоверно выше, чем в другие сезоны ($p < 0,05$). В зимний, весенний и летний периоды уровень гамма-глобулинов оставался стабильным по суткам и сезонам.

Содержание холестерина в грудном молоке было достоверно ниже летом и на первые сутки ($0,45 \pm 0,80$ ммоль/л), и на пятые сутки ($0,36 \pm 0,25$ ммоль/л) в сравнении с другими сезонами ($p < 0,05$), а осенью достоверно выше – на первые сутки $1,18 \pm 0,17$ ммоль/л, на пятые – $0,92 \pm 0,10$ ммоль/л, чем в другие времена года ($p < 0,05$).

В концентрации триглицеролов было установлено достоверное снижение их содержания летом в первые ($5,54 \pm 0,47$ ммоль/л) и пятые ($6,06 \pm 0,52$ ммоль/л) сутки в сравнении с другими сезонами ($p < 0,05$). Концентрация IgM в первые сутки не имела сезонных колебаний, но на пятые сутки было достоверно установлено снижение концентрации в осенний период ($0,19 \pm 0,06$ г/л) в сравнении с другими сезонами ($p < 0,05$).

Уровень IgG в первые сутки также не имел достоверных сезонных отличий, но к пятым суткам отмечалось его двукратное снижение до $0,96 \pm 0,32$ г/л весной по отношению к другим временам года.

Содержание IgA, напротив, достоверно превышало в осенний период на первые сутки ($7,15 \pm 2,10$ г/л) практически в 2-3 раза другие сезоны ($p < 0,05$), а к пятым суткам достоверность различий не достигала значимого уровня.

В концентрации других биохимических показателей достоверных сезонных различий выявлено не было.

В литературе имеются данные, что состав молока зависит от способа родоразрешения. Для проверки этого факта методом копи-пар были сформированы группы женщин с естественным родоразрешением и с показаниями к операции кесарево сечение без тяжелой экстрагенитальной и акушерской патологии.

В результате было установлено, что при естественном родоразрешении лактация начиналась на $3,44 \pm 0,06$ сутки, а после кесарева сечения на $3,97 \pm 0,03$ сутки ($p < 0,05$). Параллельно методом иммунохемилюминесценции измерялся уровень пролактина в сыворотке крови родильниц. Из полученных данных следует, что уровень пролактина на первые сутки

составлял $8386,61 \pm 606,92$ мМЕ/л и $8683,16 \pm 940,53$ мМЕ/л соответственно ($p > 0,05$). На пятые сутки происходило достоверно значимое снижение концентрации пролактина до $5977,35 \pm 511,97$ мМЕ/л при самостоятельных родах и до $5356,92 \pm 722,59$ мМЕ/л после операции, но различий между группами выявлено не было.

Выраженные различия были установлены между содержанием иммуноглобулинов различных классов (табл.3). В частности, на пятые сутки имело место достоверно более высокое содержание IgM после кесарева сечения ($0,58 \pm 0,06$ г/л) в отличие от самостоятельных родов ($0,42 \pm 0,04$ г/л) ($p < 0,05$), уровень IgG составил $0,99 \pm 0,19$ г/л и $1,53 \pm 0,20$ г/л соответственно ($p < 0,05$), содержание IgA, было достоверно снижено в молоке женщин после кесарева сечения на первые сутки ($2,21 \pm 0,39$ г/л) ($p < 0,05$). На пятые сутки в уровне IgA достоверных различий установлено не было.

Таблица 3

Уровень иммуноглобулинов в молоке у женщин с различным видом родоразрешения на 1-е сутки лактации и 5-е сутки после родов.

Показатель	Нормальные роды					Кесарево сечение					t-критерий
	Mx	Min	Max	σ	$\pm m$	Mx	Min	Max	σ	$\pm m$	
	N=196					N=47					
IgM 1-е сутки, г/л	0,78**	0,19	2,44	0,47	0,06	0,77**	0,33	1,74	0,42	0,07	0,88
IgM 5-е сутки, г/л	0,42	0,01	1,20	0,32	0,04	0,58	0,01	1,34	0,36	0,06	-2,64*
IgG 1-е сутки, г/л	2,09**	0,08	4,62	1,81	0,22	1,85**	0,08	4,62	1,72	0,28	0,86
IgG 5-е сутки, г/л	1,53	0,06	4,62	1,65	0,20	0,99	0,20	4,62	1,19	0,19	2,53*
IgA 1-е сутки, г/л	3,32**	0,60	24,24	3,93	0,48	2,21**	0,60	15,29	2,41	0,39	2,34*
IgA 5-е сутки, г/л	1,75	0,27	11,20	1,93	0,23	1,68	0,27	11,20	2,27	0,36	0,04

* - различия достоверны ($p < 0,05$) между группами

** - различия достоверны ($p < 0,05$) по суткам

Достоверных различий в концентрации других анализов установлено не было. Изучение биохимических показателей женского молока спустя шесть месяцев после родов не выявило достоверных различий в их концентрации.

Через шесть месяцев после родов и операции обнаружено снижение уровня пролактина в сыворотке крови женщин до $531,16 \pm 37,14$ и $506,57 \pm 35,01$ мМЕ/л соответственно ($p < 0,05$), что соответствует данным других авторов [Дедов И.И., Мельниченко Г.А., 1985; Huisman M., Lanting S.I., 1996; Воровская Т.А., Подобед Н.Д., 2003; Джамалова М.Ш., 2009].

О возрастных особенностях качественного состава молока в литературе имеются немногочисленные сведения [Кунишев СМ. и соавт., 1985; Далгатова С.В., 2000; Амирханова М.И., 2001]. В нашем исследовании в зависимости от возраста все женщины были разделены на три группы: до 20 лет, от 21 до 30 лет и старше 30. Было выявлено достоверное увеличение содержания ионов хлора в первые дни лактации и ионов железа через шесть месяцев после родов у женщин разных возрастных групп, что требует дальнейшего изучения. Концентрация других анализов в разных возрастных группах достоверных отличий не имела.

В рамках настоящего исследования нами проведен сравнительный анализ биохимического состава молока в зависимости от групп крови женщин. Наибольшие отличия имели женщины с третьей и четвертой группами крови на начальных сроках лактации. Через шесть месяцев после родов биохимический состав молока у женщин с разными группами крови достоверных различий не имел.

Несмотря на значимость этого факта, имеющихся сведений в зарубежной и отечественной литературе не найдено, а полученные нами данные требуют дальнейшего изучения.

При изучении биохимического состава молока у перво- и повторнородящих женщин, достоверных различий ни по одному биохимическому компоненту не определено. Это противоречит данным некоторых авторов, которые утверждают, что качество молока имеет некоторые отличия перво- и повторнородящих женщин [Омаров С-М,А., 2001; Амирханова М.И., 2002].

С целью дальнейшего выявления причин, влияющих на качественные показатели молока женщин, они были разделены на группы по наличию экстрагенитальной патологии, существовавшей у них на момент беременности.

Было установлено, что у женщин с наличием экстрагенитальной патологии имели место достоверно сниженные уровни натрия и триацилглицеролов в первые сутки, что доказывает влияние соматических заболеваний на метаболизм организма женщины, и, как следствие, на биохимический состав молока. Других изменений у этих групп женщин установлено не было.

При изучении влияния акушерской патологии на состав молока было установлено, что у женщин с осложненным течением первой половины беременности имело место более высокое содержание пролактина сыворотки крови на пятые сутки после родов. Это может говорить о компенсаторном его повышении для поддержания лактации.

При определении концентрации пролактина сыворотки крови через шесть месяцев после родов было отмечено его достоверное снижение у женщин с осложненным течением первой половины беременности по сравнению с группой родильниц с физиологическим течением беременности, что может свидетельствовать о глубоких изменениях в сложном нейротрансмиттерном контроле секреции пролактина как ключевого

лактогенного гормона, стимулирующего первичную выработку молока в альвеолах и нарушениях в гомеостазе организма женщин, которые привели к осложнениям или стали их следствием.

В составе молока у женщин с осложнениями первой половины беременности установлены: сниженное содержание железа на первые сутки и сниженное содержание общего белка на пятые сутки. Других изменений в составе женского молока при осложнениях первой половины беременности установлено не было. По нашему мнению, снижение содержания общего белка в условиях патологии обусловлено, видимо изменением интенсивности их протеолиза и синтеза.

При изучении качественного состава молока у женщин, вторая половина беременности которых протекала с осложнениями, определялось более низкое содержание бета-лактальбумина и высокое содержание триацилглицеролов на первые сутки, а также высокое содержание альфа-лактальбумина на пятые.

Других изменений, а также и через шесть месяцев после родов в биохимическом составе молока в зависимости от осложнений второй половины беременности выявлено не было.

Проведя корреляционный анализ всех изучаемых показателей в рамках настоящего исследования, было получено, что большинство показателей имели между собой достоверные, но слабые связи – от 0,3 до 0,6. Следует отметить признаки, которые имели выраженные корреляции между собой.

К ним относились калий молока первых суток и общий белок крови ($r=0,65$), калий и натрий грудного молока в первые сутки ($r=0,70$), калий и холестерол первых суток ($r=0,64$).

Высокого уровня связи имели место в концентрации натрия в первые сутки с уровнем белка молока на первые сутки ($r=0,61$), с калием молока ($r=0,70$) и холестерином через шесть месяцев ($r=0,74$).

Через шесть месяцев отмечена высокая связь между содержанием натрия и пролактина сыворотки крови ($r=0,69$).

Связи высокого уровня отмечены в концентрации кальция первых и пятых суток ($r=0,67$), а также через шесть месяцев между кальцием и калием ($r=-0,67$), причем эта связь имела отрицательное значение. Содержание холестерина грудного молока в первый день имело сильную отрицательную связь с уровнем калия молока через шесть месяцев ($r=-0,64$). Других выраженных корреляционных связей между показателями установлено не было.

Данные о взаимосвязях биохимических составляющих грудного молока встречаются у других авторов, но эти данные разрозненные, а иногда противоречивы [Морарь Х.С., Ковалевский Н.М., 1955; Бутолин Е.Г., Иванов В.Г., 1998].

В результате работы установлены референтные значения основных биохимических показателей грудного молока и уровня пролактина сыворотки крови женщин Белгородской области (табл. 4).

Таблица 4

Референтные значения основных биохимических показателей молока и пролактина сыворотки крови женщин в динамике.

Показатель	Нормальные роды						Кесарево сечение					
	1 сутки		5 сутки		6 месяц		1 сутки		5 сутки		6 месяц	
	М-σ	М+σ	М-σ	М+σ	М-σ	М+σ	М-σ	М+σ	М-σ	М+σ	М-σ	М+σ
Начало лактации, сутки	2,94	3,94					3,81	4,13				
Пролактин, 1мМЕ/л	3418,72	13354,5	1755,51	10199,19	229,37	832,95	2885,32	14481	844,33	9869,51	197,88	815,26
K ⁺ , ммоль/л	10,68	18,36	11,15	19,59	11,13	14,81	9,86	19,16	10,76	19,54	11,15	15,99
Na ⁺ , ммоль/л	8,18	26,6	11,68	18,46	9,47	13,53	8,61	33,17	11,49	18,33	9,35	14,31
Ca ²⁺ , ммоль/л	3,08	7,0	2,91	7,83	3,13	4,83	3,06	6,84	2,46	7,52	3,27	4,91
P, ммоль/л	0,07	14,38	0,39	2,61	-	-	0,07	19,5	0,84	1,84	-	-
Fe ³⁺ , мкмоль/л	2,14	17,92	2,65	17,75	0,57	11,53	1,44	20,52	3,48	14,7	0,74	9,06
Cl ⁻ , ммоль/л	8,57	23,27	11,48	18,62	13	17	11,2	19,9	11,47	18,19	13,43	17,57
Общий белок, г/л	10,13	33,67	13,93	20,81	13,33	19,87	9,13	36,21	14,26	21,64	11,68	21,12
Альфа-лактальбумин, %	26,8	43,32	27,99	44,17	-	-	27,56	43,02	27,73	42,03	-	-
Бета-лактальбумин, %	10,5	20,9	11,97	20,99	-	-	11,37	23,33	12,88	20,54	-	-
Гамма-глобулины, %	32,12	47,82	34,57	51,21	-	-	35,21	45,87	36,21	50,65	-	-
Холестерол, ммоль/л	0,16	1,26	0,19	0,93	0,01	0,85	0,22	1,38	0,24	0,94	0,01	1,28
Триацилглицеролы, ммоль/л	1,44	12,42	4,95	14,47	4,82	13,04	1,8	13,54	6,28	13,76	2,48	12,14
Глюкоза, ммоль/л	0,09	3,44	0,68	1,66	0,14	2,58	0,13	1,39	0,76	1,8	0,09	2,47
IgM, г/л	0,31	1,25	0,1	0,74	-	-	0,35	1,19	0,22	0,94	-	-
IgG, г/л	0,28	3,9	0,01	3,18	-	-	0,13	3,57	0,01	2,18	-	-
IgA, г/л	0,09	7,25	0,01	3,68	-	-	0,09	4,62	0,08	3,95	-	-

Учитывая, что все показатели имели нормальный тип распределения, мы в качестве нормы взяли среднее значение \pm одно стандартное отклонение (σ). Данный диапазон включает в себя 50% всех исследований и может быть принят за интерквартильный интервал 25-75%. Эти показатели следует использовать как нормальные только в ближайшие 5-10 лет.

ВЫВОДЫ

1. Предложен способ пробоподготовки женского молока для получения молочной сыворотки в целях стандартизации преаналитического этапа лабораторного исследования и анализа данной биологической жидкости.
2. Проведен мониторинг биохимического состава молока женщин Белгородской области в динамике (первые сутки лактации, пятые сутки и шесть месяцев после родоразрешения) с использованием современного лабораторного оборудования.
3. При родоразрешении путем операции кесарево сечение отмечается более позднее начало лактации на 0,53 суток. В молоке установлено сниженное содержание IgA в первые сутки лактации и IgG на пятые сутки после родов, а также повышенное: бета-лактальбумина в первые сутки

лактации, IgM на пятые сутки в сравнении с естественным родоразрешением.

4. Установлено, что внешнесредовые факторы и физиологическое состояние женщины влияют на биохимический состав сыворотки молока:
 - наибольшее влияние оказывают год и сезон родоразрешения, возраст и группа крови женщин;
 - максимально чувствительными к внешним факторам являются такие показатели как содержание ионов натрия, железа, хлора, концентрация общего белка, бета-лактальбумина, триацилглицеролов, IgA и IgM;
 - через шесть месяцев после родов содержание большинства анализов женского молока не имеют достоверных различий во всех исследуемых группах.
5. Установлены референтные интервалы биохимических параметров молока и уровня пролактина сыворотки крови у женщин Белгородской области на первые сутки лактации, пятые сутки и шесть месяцев после родов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1.Использовать предложенный способ пробоподготовки, заключающийся в предварительном обезжиривании и депротеинизации женского молока, с целью получения рабочего образца (молочная сыворотка).

2.Использовать предложенные средние и референтные значения основных биохимических составляющих в качестве нормальных для оценки биохимического состава молока женщин Белгородской области.

3.Предложить практическому здравоохранению полученные референтные значения биохимических показателей молока для разработки и применения комплекса мер по возможной коррекции грудного вскармливания в зависимости от сезона.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Чуприна, А. В. Качественный состав грудного молока родильниц Белгородской области [Текст] / А. В. Чуприна, Г. Н. Ключкова, С. П. Пахомов // Вестник РГМУ. – 2010. – Спец. вып. № 2. – С. 293. – (Материалы V междунар. (XIV Всерос.) Пироговской науч. мед. конф. студентов и молодых ученых, Москва, 18 марта 2010 г.).*
2. Чуприна, А. В. Факторы, влияющие на качественный состав грудного молока родильниц [Текст] / А. В. Чуприна, Г. Н. Ключкова, С. П. Пахомов // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10, № 5. – С. 194-195.
3. Чуприна, А. В. Электролитный состав грудного молока родильниц Белгородской области при различном типе родоразрешения [Текст] / А. В. Чуприна, Г. Н. Ключкова, С. П. Пахомов // Медико-биологические

- аспекты мультифакториальной патологии : материалы 2-ой всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Курск, 17-19 мая 2011 г. : сб. материалов / КГМУ ; отв. ред. В. П. Иванов. – Курск, 2011. – С. 374-375.
4. Тихонова, А. В. Динамика изменений химического состава грудного молока женщин Белгородской области в послеродовом периоде [Текст] / А. В. Тихонова, Г. Н. Клочкова, С. П. Пахомов // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2, ч. 2 (58). – С. 337.**
 5. Клочкова, Г. Н. Сезонные колебания химического состава грудного молока женщин Белгородской области [Текст] / Г. Н. Клочкова, А. В. Тихонова, С. П. Пахомов // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2, ч. 2 (58). – С. 309. **
 6. Тихонова, А. В. Содержание неорганических соединений в молоке родильниц Белгородской области в зависимости от сезонов [Текст] / А. В. Тихонова, Г. Н. Клочкова, С. П. Пахомов // Вестник РГМУ. – 2012. – Спец. вып. № 1. – С. 77-78. – (Материалы VII междунар. (XVI Всерос.) Пироговской науч. мед. конф. студентов и молодых ученых, Москва, 15 марта 2012 г.).*
 7. Клочкова, Г. Н. Содержание органических соединений в молоке родильниц Белгородской области в зависимости от сезонов [Текст] / Г. Н. Клочкова, А. В. Тихонова, С. П. Пахомов // Вестник РГМУ. – 2012. – Спец. вып. № 1. – С. 54. – (Материалы VII междунар. (XVI Всерос.) Пироговской науч. мед. конф. студентов и молодых ученых, Москва, 15 марта 2012 г.).*
 8. Практикум по химии [Текст] : учеб. пособие для студентов, обучающихся по спец. 040600 «Сестринское дело» / А. А. Шапошников, Г. Н. Клочкова, И.И.Олейникова [и др.] ; БелГУ, Ин-т последиплом. мед. образования. – Белгород : БелГУ, 2005. – 153 с.
 9. Электронный учебник «Практикум по химии»: свидетельство об отраслевой регистрации разработки ОФЕРНИО № 7299 : ЕСПД .02079230.00044-01 99 01 / авт.-разраб.: А. А. Шапошников, Л. А. Дайнека, Г. Н. Клочкова [и др.]. – ID 6577 ; заявл. 25.10.2006 ; зарегистр. 07.12.2006.
* - ВАК РФ
** - ВАК Украины