

БУШУЕВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

**ДИЕТОТЕРАПИЯ
ПРИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ,
ВЫЯВЛЯЕМОЙ ПО НЕОНАТАЛЬНОМУ СКРИНИНГУ**

14.01.08. – педиатрия

14.01.11. – нервные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва - 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор Татьяна Эдуардовна Боровик
доктор медицинских наук, профессор Людмила Михайловна Кузенкова

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующая кафедрой факультетской
и поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО
«Нижегородская государственная
медицинская академия» Минздрава России

Елена Фёдоровна Лукушкина

доктор медицинских наук,
руководитель научно-консультативного
педиатрического отделения ФГБУ
«Научный центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России

Анна Владимировна Дегтярёва

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой неврологии
детского возраста ГБОУ ДПО «Российская медицинская
академия последипломного образования» Минздрава России

Валерий Петрович Зыков

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

Защита диссертации состоится «__» _____ 2016 г. в «__» часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при ФГБНУ «Научный центр здоровья детей» по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1 и на сайте <http://www.nczd.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор РАН

Ирина Валериевна Винярская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Наследственные нарушения обмена веществ (НБО) отличаются генетической гетерогенностью, мультисистемным поражением и клиническим полиморфизмом с преобладанием патологических симптомов со стороны центральной нервной системы (ЦНС). Около 40% этих заболеваний имеют раннее начало, прогрессирующее течение, завершаются летальным исходом в раннем детском возрасте или инвалидизацией больного.

Большая роль в их этиологии принадлежит хромосомным аномалиям, обуславливающим патологическую направленность метаболизма белков, жиров, углеводов и их производных (Барашиев Ю.И., 2005, Menkes J.H. et al, 2006). По различным данным, суммарная частота наследственных болезней обмена веществ среди новорожденных составляет приблизительно 1:1000-1:5000 (Warner T.T., 2005, Acosta P.B., 2010, Zschocke J., 2011, Новиков П.В., 2014).

Важнейшим этапом в предупреждении тяжелых осложнений и инвалидизирующих расстройств у детей является ранняя диагностика и назначение патогенетической терапии на доклиническом этапе (Барашиев Ю.И., 2004 Macleod E.L., 2010). Это стало возможным только с помощью проведения массового скрининга новорожденных детей (Walter W 2006, Новиков П.В., 2012, Zerjav Tansek M., 2015). Внедрение с 1983 года в Российской Федерации неонатального скрининга на фенилкетонурию (ФКУ) и врожденный гипотиреоз, а с 2006 года - на адреногенитальный синдром, галактоземию и муковисцидоз позволило не только своевременно выявлять эти формы патологии, начать коррекцию метаболических нарушений, но и получить сведения о частоте указанных заболеваний (Захарова Е.Ю., 2012 Новиков П.В., 2013). Согласно данным неонатального скрининга за 2012 год, частота фенилкетонурии в Российской Федерации составляет 1: 6 971, галактоземии - 1:20149 (Новиков П.В. 2014).

Особое место в лечении НБО занимает диетотерапия, которая является патогенетическим методом коррекции врожденных метаболических нарушений и, согласно накопленному мировому опыту, в большинстве случаев должна проводиться пожизненно с учетом особенностей каждого возрастного периода (Thompson S.M., 2003, Acosta P.B., 2010, Strisciuglio Pietro, 2014).

Основным принципом диетотерапии является ограничение или полное исключение патогенетически значимых компонентов пищи с целью обхода метаболического блока и предупреждения накопления продуктов аномального обмена, оказывающих токсическое воздействие на организм ребенка. При нарушениях аминокислотного обмена, в том числе и ФКУ, из рациона больных исключаются высокобелковые натуральные продукты питания, уменьшается квота общего белка (Acosta P.B., 2010, MacDonald A. et al, 2012, Боровик Т. Э., Ладодо К.С. 2015). При классической форме галактоземии назначается

пожизненная безгалактозная/безлактозная диета с исключением женского молока, детских молочных смесей, цельного молока и его производных, обсуждается целесообразность и длительность применения диетотерапии при других формах галактоземии (*Bosch A.M. et al., 2006, Fernhoff P.M., 2010., Jumbo-Lucioni P.P. 2012*).

В последние годы, несмотря на накопленный опыт диагностики и лечения ФКУ, возрастает интерес к новым видам терапии и возможностям совершенствования диетического лечения (*Баранов А.А. с соавт., 2012, Robert M., et al., 2013, Yi S.H., 2015*). Активно обсуждаются вопросы потребности и обеспеченности больных различных возрастных групп белком, аминокислотами, жирами, витаминами и другими нутриентами (*Koletzko B.et al 2007, Weigel C.et al 2008, Lammardo A.M. et al 2013, Evans S, et al 2014, Aguiar A, et al 2015*), изучается взаимосвязь между качественным составом белкового компонента пищи и показателями физического и психомоторного развития больных детей (*Burrage L.C.et al., 2012, Couce M.L.et al., 2015, Koletzko B. et al., 2013*).

Большое внимание уделяется изучению отдаленных результатов лечения и его влияния на нервно-психическую сферу, исследованиям качества жизни больных с НБО, возможностям его улучшения, в том числе за счет оптимизации состава и расширения ассортимента специализированных продуктов, организации психологической и социальной помощи больным и их семьям (*Van Spronsen F.J., 2009, Singh Rani H.et al., 2014, Hood A et al 2014*).

Отсутствие единых подходов к лечению галактоземии и дальнейшему наблюдению за больными указывает на необходимость проведения сравнительных исследований для выявления положительных или отрицательных последствий различной тактики ведения данного заболевания (*Jumbo-Lucioni P.P. et al., 2012, Berry GT. 2014*). Обсуждаются патофизиологические механизмы повреждения нервной системы, различных органов и тканей под воздействием повышенных концентраций фенилаланина и галактозы при метаболической декомпенсации в экспериментальных условиях (*Jumbo-Lucioni P.P. et al., 2013, He YZ et al., 2014, Ying-Zhong He et al., 2014*).

Учитывая все вышесказанное, чрезвычайно важным является анализ влияния длительно проводимой диетотерапии на нутритивный статус, нервно-психическое развитие и качество жизни больных ФКУ и галактоземией, а также обоснование и разработка новых отечественных продуктов лечебного питания со специально заданным составом, оптимизация терапевтической коррекции НБО, которые выявляются в Российской Федерации путем неонатального скрининга.

Цель исследования: научно обосновать необходимость разработки и включения в состав патогенетической диетотерапии новых отечественных специализированных продуктов для больных с наследственными нарушениями аминокислотного и углеводного обмена, выявляемых по неонатальному скринингу.

Задачи:

1. Определить антропометрические, биохимические и иммунологические параметры у больных с классической фенилкетонурией и галактоземией I типа на фоне элиминационной диетотерапии.
2. Установить влияние гипофенилаланиновой диеты на неврологический статус и качество жизни больных фенилкетонурией в зависимости от начала ее проведения.
3. Обосновать и разработать состав отечественных специализированных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина, а также безбелковых и низкобелковых продуктов на основе крахмалов, оценить их безопасность и эффективность у больных фенилкетонурией.
4. Установить особенности неврологического статуса больных с галактоземией в зависимости от формы и тяжести течения заболевания.
5. Разработать состав и рецептуру нового отечественного безлактозного продукта, обогащенного докозгексаеновой кислотой, оценить его безопасность и эффективность у больных галактоземией.
6. Разработать алгоритм назначения лечебного питания и выбора безлактозных смесей на различной белковой основе для больных галактоземией I типа.

Научная новизна

Впервые сформулирована современная медико-биологическая концепция оптимизации диетотерапии фенилкетонурии и галактоземии у детей.

Впервые в педиатрической практике проведено комплексное проспективно-ретроспективное исследование особенностей течения классической фенилкетонурии и галактоземии I типа на основании оценки параметров физического развития, показателей неврологического статуса, лабораторных и инструментальных данных в зависимости от начала патогенетической диетотерапии и длительности ее проведения. Доказано, что у больных с фенилкетонурией при поздно установленном диагнозе и отсроченном начале лечения отмечаются нарушения физического развития: избыточная масса тела и ожирение – у 14%, недостаточная масса тела у 13%, низкорослость – у 10%, а также задержка психомоторного развития у 65% пациентов и регресс ранее приобретенных моторных навыков - у 3%.

Показано, что на фоне патогенетической гипофенилаланиновой диеты, проводимой более 3-х лет пациентам с поздно начатым лечением (после 3-х мес. жизни), отмечается положительная динамика неврологических симптомов, однако, умственная отсталость различной степени тяжести формируется в 5,3 раза чаще, чем у больных, выявленных по неонатальному скринингу и рано начавших получать лечение.

Установлено, что своевременное назначение гипофенилаланиновой диеты с включением современных специализированных продуктов без фенилаланина, сбалансированных по макро- и микронутриентному составу, и строгое ее соблюдение

позволяют обеспечить адекватное физическое и нервно-психическое развитие больных фенилкетонурией.

Впервые показано, что своевременно начатое лечение (до 3-х мес. жизни), способствует повышению качества жизни больных фенилкетонурией, особенно параметров психосоциального здоровья: эмоционального тонуса, адаптации в дошкольных и школьных учреждениях, эффективности обучения. Однако указанные показатели больных ФКУ остаются на более низком уровне по сравнению со здоровыми сверстниками. Самостоятельное расширение диеты подростками снижает степень их социальной адаптации, что требует более пристального врачебного контроля.

Установлено, что применение специализированных продуктов без фенилаланина, имеющих скор незаменимых аминокислот (лизина, треонина, изолейцина, лейцина, валина, метионина, триптофана, тирозина) менее 95% приводит к снижению их содержания в крови и повышению уровня фенилаланина, что указывает на конкурентные отношения названных аминокислот и фенилаланина при проникновении в кровеносное русло.

Для больных ФКУ различного возраста впервые в России разработаны современные отечественные специализированные продукты повышенной биологической ценности, обогащенные длинноцепочечными полиненасыщенными жирными кислотами, олигосахаридами, эссенциальными микронутриентами, а также созданы новые низкобелковые и безбелковые продукты, позволяющие расширить ассортимент гипофенилаланиновой диеты и повысить ее энергетическую ценность. Доказана их хорошая переносимость, высокая клиническая эффективность в отношении физического и нервно-психического развития больных.

Впервые показано, что при систематическом нарушении диетического режима больными ФКУ повышение уровня фенилаланина крови сопровождается снижением В-лимфоцитов, Т-цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток и увеличением активности митохондриальных ферментов дыхательной цепи – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и никотинамидадениндинуклеотид дегидрогеназы (НАДН-дегидрогеназы).

Впервые установлено, что тяжесть манифестации клинических симптомов при галактоземии зависит от степени снижения активности галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (менее 10%, от 10 до 25%, более 25% по отношению к среднему референсному значению), повышения концентрации общей галактозы (выше или ниже 10 мг%) и наличия мажорной мутации Q188R в гомозиготном или гетерозиготном состоянии с другими мутациями).

Установлено, что при галактоземии I типа классический вариант заболевания с жизнеугрожающим течением, требующим проведения интенсивной терапии и максимально раннего (в первые 10 дней жизни ребенка) назначения патогенетической безлактозной/безгалактозной диеты, наблюдается у 39% больных, выявленных по

неонатальному скринингу. При других клинических вариантах галактоземии, включая вариант Дуарте (мутация N314D в компаунд гетерозиготном или гомозиготном состоянии), отмечено вариабельное течение заболевания: от среднетяжелого (28,4%) до субклинического (16,8%). Отсутствие клинических симптомов выявлено у 9,9% детей, гомозиготных по мутации N314D, и у 5,9% гетерозиготных носителей мутации Q188R, при пограничном уровне общей галактозы крови по результатам неонатального скрининга.

Показано, что при классической галактоземии безлактозная/безгалактозная диета, начатая после 10 дня жизни, позволяет избежать летального исхода, но полностью не предупреждает формирование отдаленных неврологических нарушений в виде недоразвития речи разного уровня у 100% больных, расстройств моторной функции у 13%, умственной отсталости у 10%. Нейрорадиологические признаки поражения вещества головного мозга выявлены у 18% этих больных.

Впервые разработан и налажен промышленный выпуск новой отечественной безлактозной смеси «Нутрилак безлактозный+», обогащенной длинноцепочечными жирными кислотами, доказана ее высокая клиническая эффективность и безопасность при использовании у больных галактоземией I типа.

Впервые показано, что дифференцированный подход к назначению диетотерапии с учетом уровня галактозы крови, выраженности цитолиза, тяжести течения заболевания позволяет сохранить грудное вскармливание при легких клинических вариантах галактоземии, ограниченно использовать его при среднетяжелых формах и полностью исключить при тяжелом течении галактоземии. Однако на фоне строгой безлактозной/безгалактозной диеты уровень общей галактозы остается повышенным относительно здоровых детей за счет её эндогенного синтеза.

Впервые установлено, что, несмотря на проведение безлактозной/безгалактозной диеты, у больных с тяжелым течением галактоземии количество В-лимфоцитов и активность сукцинатдегидрогеназы уменьшаются, являясь предиктором преждевременного апоптоза и повышенного риска ранней нейродегенерации в условиях метаболической декомпенсации.

Практическая значимость

Установлены особенности физического и нервно-психического развития больных ФКУ в зависимости от начала патогенетической диетотерапии и качественных характеристик применяемого специализированного продукта.

Определена биологическая ценность (аминокислотный скор эссенциальных больших нейтральных аминокислот, т.е. их содержание по отношению к таковым в «идеальном белке») специализированных продуктов без фенилаланина, широко применяемых в питании больных ФКУ в Российской Федерации. Установлено, что

снижение скора (менее 95%) указанных аминокислот в продукте сопровождается повышением уровня фенилаланина в крови больных фенилкетонурией.

Разработаны новые отечественные специализированные продукты высокой биологической и пищевой ценности на основе аминокислот без фенилаланина серии «Нутриген -phe», а также низко- и безбелковые продукты на основе крахмалов и углеводно-жировых концентратов серий «Нутриген» и «Детка» для больных ФКУ различного возраста. Разработан специализированный продукт «Нутрилак безлактозный +» для больных галактоземией.

Установлено, что для организации патогенетической диетотерапии больных с ФКУ и галактоземией целесообразно использовать современные Российские нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах (МР 2.3.1.2432-08).

Показана необходимость медикаментозной профилактики остеопороза у больных галактоземией старше 1 года с подбором безлактозных препаратов кальция и витамина D; при наличии неврологической симптоматики рекомендовано применение противосудорожных, ноотропных и метаболических препаратов, не содержащих лактозу.

Для обеспечения высокой эффективности диетотерапии и удовлетворительной комплаентности пациента необходимо совместное ведение больных с наследственной патологией обмена веществ специалистами различного профиля (педиатр, невропатолог, диетолог, психолог, генетик).

Доказано, что своевременная патогенетическая дифференцированная и контролируемая диетотерапия позволяет предотвратить тяжелые неврологические нарушения и повысить качество жизни больных ФКУ, а при классической галактоземии - избежать летального исхода.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты и научные разработки внедрены в клиническую практику отделения питания здорового и больного ребенка, отделения психоневрологии и психосоматической патологии, отделения патологии раннего детского возраста, Консультативно-диагностического центра ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России.

Результаты исследования представлены в «Федеральных клинических рекомендациях по оказанию медицинской помощи детям с фенилкетонурией и нарушениями обмена тетрагидробиоптерина» и «Федеральных клинических рекомендациях по оказанию медицинской помощи детям с галактоземией», утвержденных Союзом педиатров России и размещенных на сайте МЗ РФ <http://www.femb.ru>

Материалы работы внедрены в педагогический процесс кафедры педиатрии и детской ревматологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России и Отдела постдипломного образования ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России.

Апробация работы:

Основные положения и результаты исследования доложены на XIV, XVI, XVII, XVIII Конгрессах педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2010, 2012-2015), VI, VIII, Российских Конгрессах «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2007, 2009), XI, XII, XIII, XIV Российских Конгрессах «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2012-2015), Научно-практических конференциях «Неонатальный скрининг. Клиника, диагностика, лечение и принципы диетотерапии при болезнях нарушения обмена» (Кострома, 2007), «Актуальные проблемы педиатрии» (Калуга, 2009), «Фармакотерпия и диетотерапия в педиатрии» (Ставрополь, 2010) и (Казань, 2011), II Конгрессе педиатров Урала с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Екатеринбург, 2012), Всероссийской научно-практической конференции по медицинской генетике с международным участием «Современные технологии профилактики наследственных болезней и детской инвалидности» (Санкт-Петербург, 2009), Российских Конгрессах с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины. Возможное и реальное» (Санкт-Петербург, 2010, 2011, 2015), II Всероссийской конференции по редким заболеваниям и редко применяемым медицинским технологиям «Дорога жизни» с международным участием (Санкт-Петербург, 2011), V Всероссийском форуме «Здоровье детей: профилактика социально-значимых заболеваний» (Санкт-Петербург, 2011), VI и VII Съездах Российского общества медицинских генетиков (Ростов–на-Дону, 2010; Санкт-Петербург, 2015), VIII Научной конференции «Генетика человека и патология» (Томск, 2007), I Сибирской международной конференции генетиков «Наследственные ошибки метаболизма» (Томск, 2010), Международной научно-практической конференции «Медицинские и социальные проблемы орфанных болезней: диагностика, лечение, профилактика» (Томск, 2014), Межрегиональной научно-практической конференции «Современные молекулярно-биологические и генетические технологии в медицинской практике» (Новосибирск, 2013), Annual Symposium of the Society for the study of Inborn Errors of Metabolism (Испания, 2013), (Австрия, 2014), (Франция, 2015).

Публикации

Результаты исследования опубликованы в 43 работах, включая 19 статей в рецензируемых ВАК РФ журналах, 1 статья в иностранной печати.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 348 страницах, включает введение, 10 глав, заключение, выводы, практические рекомендации, 120 таблиц и 95 рисунков, список литературы состоит из 49 отечественных и 239 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа была выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ № 01.2006-14674 «Медико-биологические основы обоснования и создания новых продуктов детского и лечебного питания» на базе клинических отделений и лабораторий НИИ педиатрии и НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения (директор – член-корр. РАН, проф. Л.С. Намазова-Баранова) ФГБУ «Научный центр здоровья детей» МЗ РФ (директор – академик РАН, проф. А.А. Баранов).

Клинические исследования были выполнены в отделениях питания здорового и больного ребенка (зав. отд. - д.м.н., проф. Т.Э. Боровик), психоневрологии и психосоматической патологии (зав. отд. – д.м.н., проф. Л.М. Кузенкова), патологии детей раннего детского возраста (зав. отд. – д.м.н., проф. Ю.С. Акоев), Консультативно-диагностическом центре (главный врач – к.м.н. А.К. Геворкян).

Комплекс лабораторных исследований был проведен в лабораторном отделе ФГБУ «НЦЗД» МЗ РФ (руководитель – д.м.н. Н.А. Маянский): в лабораториях клинической биохимии (зав.– д.м.н., проф. М.И. Баканов), цитохимии (зав. - д.б.н., проф. С.В. Петричук), социальной педиатрии (зав. – к.м.н. Н.В. Устинова), специальной психологии и коррекционного обучения (зав. – д.п.н. С.Б. Лазуренко).

Было комплексно обследовано 370 пациентов с наследственной патологией обмена веществ в возрасте от 5 дней до 36 лет. В зависимости от вида метаболических нарушений больные были распределены на две группы. В I группу вошли 269 (73%) пациентов с классической ФКУ в возрасте от 10 дней до 36 лет, II группу составил 101 (27%) ребенок с галактоземией I типа в возрасте от 5 дней до 15 лет.

Пациенты I группы с ФКУ были распределены на три подгруппы в зависимости от возраста начала лечения: подгруппа IA - раннее начало лечения (до 3-х месяцев жизни), подгруппа IB - позднее начало лечения (после 3-х месяцев жизни), подгруппа IC – взрослые пациенты с поздним началом лечения. Больные II группы с галактоземией были распределены на три подгруппы в соответствии с тяжестью течения: подгруппа IIA – тяжелое, подгруппа IIB – среднетяжелое, подгруппа IIC – легкое (табл.1).

Группу сравнения по содержанию галактозы крови составили 20 детей первого года жизни, находившихся на грудном вскармливании, для оценки качества жизни - 64 здоровых ребенка в возрасте от 5 до 18 лет и их родители, для анализа изменений иммунофенотипа и активности митохондриальных ферментов – 34 ребенка с рождения до 18 лет, не имевших наследственных нарушений обмена веществ, других острых или хронических заболеваний.

Таблица 1

Распределение пациентов с фенилкетонурией и галактоземией

Все пациенты (n=370)													
Группы		I группа - фенилкетонурия (n=269)					II группа - галактоземия (n=101)						
П О Д Г Р У П Ы	название	IA дети		IB дети		IC взрослые		IIA		IIB		IIC	
	начало лечения	до 3-х мес.		после 3-х мес.		после 3-х мес.							
	течение болезни						тяжелое		средне тяжелое		легкое		
Число пациентов (n,%)		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
		189	70,3	68	25,3	12	4,4	39	38,6	28	27,7	34	33,7

Обследование пациентов с ФКУ и галактоземией включало сбор анамнеза глубиной в 3 поколения, клинический осмотр (состояние слизистых, кожных покровов, внутренних органов и систем, выявление сопутствующих заболеваний).

Физическое развитие больных ФКУ оценивали с помощью программы WHO Antroplus 2009 3-хкратно: при рождении, перед назначением диетического лечения и через 1 год от начала диетотерапии (табл. 2).

Таблица 2

Диагностическое значение Z-scores антропометрических показателей

Z-scores	Диагностическое значение	
Масса тела к возрасту	<-2 SD	дефицит массы тела (задержка прибавки массы тела)
	>+2 SD	избыточная масса тела или ожирение
Длина тела (рост) к возрасту	<-2 SD	низкорослость
	>+2 SD	высокорослость
Индекс массы тела (ИМТ) к возрасту	<-2 SD	недостаточность питания (дефицит массы тела к росту)
	>+1 и <+2SD	избыточная масса тела
	>+2 SD	ожирение

Характеристика неврологического статуса пациентов основывалась на анализе частоты и форм перинатальной патологии ЦНС по данным амбулаторных и стационарных карт и трехкратной оценки их психомоторного развития: до назначения патогенетической диеты, через 1 год от начала ее применения и при использовании диетотерапии в течение трех лет. Для оценки психомоторного развития (ПМП) детей первого года жизни нами была использована оригинальная методика Журбы Л.Т., Мاستюковой Е.М. (1981), для детей старше 1 года - ее модифицированный вариант (Турсунхужаева С.Ш., 2013), критерии их оценки представлены в табл. 3.

Неврологический статус взрослых пациентов оценивали на основании данных амбулаторных карт и путем совместного осмотра с психоневрологом по методике Гусева Е.И., Коновалова А.Н. (2009).

Таблица 3

Количественная оценка нарушений неврологического статуса

Баллы	Характеристика баллов
27-30	вариант возрастной нормы
23-26	группа риска
13-22	задержка развития
ниже 13	тяжелая задержка развития

Срезовой анализ качества жизни больных ФКУ различного возраста из разных регионов РФ был проведен с помощью общего опросника Pediatric Quality of Life Inventory – PedsQL™4.0 (Varni et al., USA, 2001).

Оценку речевого развития проводили по методике Филичевой Т.Б., Чиркиной Г.В. (1989).

Диагностика нарушений метаболизма была проведена у большинства (94%) пациентов путем неонатального скрининга, у 6% использовались качественные и другие методы подтверждающей диагностики. Результаты неонатального скрининга были оценены в соответствии с инструкцией к применяемым методикам (табл. 4).

Таблица 4

Оценка показателей неонатального скрининга на фенилкетонурию и галактоземию

Результат неонатального скрининга	Показатели неонатального скрининга			
	Концентрации в сухом пятне крови (мг/дл)		Активность галактозо-1 фосфат уридилтрансферазы (Г-1-ФУТ) (Ед/гНб)	
	фенилаланин	общая галактоза	в сухом пятне крови	в цельной крови
отрицательный	< 2	< 7,2	>4,4	-
пограничный (сомнительный)	2	7,2 - 10	2,5 - 4,4	1,3
Положительный	> 2	> 10	< 2,5	< 1,3

Молекулярная диагностика классической галактоземии была проведена у детей с повышенным уровнем общей галактозы сыворотки крови в рамках второго этапа неонатального скрининга (подтверждающая диагностика), включающего определение наиболее частых мутаций в гене Г-1-ФУТ: p.Gln188Arg (Q188R), p.Lys285Asn (K285N), а также полиморфизм Дуарте - p.Asn314Asp (N314D) (Захарова Е.Ю., 2012).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) применялась для определения спектра свободных аминокислот плазмы крови на аминокислотном анализаторе KNAUER (Германия), оптимизированном для анализа 30 аминокислот (Баканов М.И., 2006).

Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови исследовали с использованием проточной цитофлуориметрии (проточный лазерный цитофлуориметр CYTOMICS FC 500 (Beckman Coulter, США) (Хайдуков С.В., Зурочка А.В., 2008), *активность*

внутриклеточных ферментов (СДГ, НАДН-дегидрогеназа и ЛДГ) определяли цитоморфоденситометрическим методом с использованием анализатора для визуализации морфологических препаратов «ВидеоТест» и программы «Морфология 5.2» (Петричук С.В. с соавт., 2007).

Электроэнцефалографическое исследование (ЭЭГ) с синхронным видеомониторингом выполнялось на цифровых электроэнцефалографах Bravo, NicOne (Nicolet, США) и «MEDELEC» (Великобритания) во время физиологического дневного сна или в период бодрствования, с проведением различных функциональных нагрузок (гипервентиляция, фотостимуляция, депривация сна).

Магнитно-резонансная томография головного мозга проводилась по показаниям в режимах T₁-, T₂-взвешенных изображений и FLAIR на аппарате «1,5 TE GE SIGNA Twin speed» производства «General Electric» (США) мощностью 1,5 Тесла.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) внутренних органов (печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, почек, сердца, щитовидной железы, органов малого таза) проводили пациентам выборочно по показаниям независимо от возраста на аппаратах Aloka SSD-680 и SSD-1700 (Aloka Co, Япония) датчиками с частотой 3,5-5 МГц, Logiq-9 (GE HC, USA) датчиками 5-14 МГц.

Специальные диетологические методы применялись при анализе пищевой ценности лечебных рационов с ранее используемыми и разработанными нами отечественными продуктами, а также при определении биологической ценности специализированных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина (Барановский Ю.А., 2008) и низкобелковых продуктов на основе крахмала (Лисицын А.Б., 2002).

Медико-биологическое обоснование состава и разработка рецептур новых отечественных продуктов для больных ФКУ и галактоземией проводились в соответствии с Федеральным законом РФ №163-ФЗ от 22 июля 2010 г. «О внесении изменений в Федеральный закон «Технический регламент на молоко и молочную продукцию» и «Техническим регламентом Таможенного Союза ТР ТС 027/2012 «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания».

Оценка безопасности и клинической эффективности разработанных нами специализированных продуктов у больных ФКУ и галактоземией проводилась в соответствии с принципами надлежащей клинической практики, действующими в странах ЕС с 1991 г. (European Good Clinical Practis Guidelines 1991), директивными указаниями Минздрава РФ и практикой проведения апробаций в ФГБУ НЦЗД МЗ РФ.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA), и SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Inc., USA) версия 14.0. Уровень статистической значимости различий принимали равным

$p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с помощью непараметрического критерия Спирмена (r_s), при значении которого менее 0,5 функциональная связь расценивалась как слабая, 0,5-0,7 – умеренная, более 0,7 – сильная.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка семейного анамнеза трех поколений родственников больных ФКУ показала, что в семьях 6,7% больных были сибсы с аналогичным заболеванием, по 2,6% пациентов имели родственников с недифференцированной олигофренией и хроническим алкоголизмом.

Патология перинатального периода отмечалась в анамнезе у 118 (43,8%) пациентов, в том числе предшествовавшее беременности бесплодие наблюдалось у 8 (3%) супружеских пар, 6 (2,2%) беременностей наступило в результате экстракорпорального оплодотворения, из них 3 ребенка из dizygотных двоен (в том числе 2 сибса). Осложненное течение беременности наблюдалось в 96 (35,7%) случаях. Все дети родились в результате своевременных родов, в 86,6% случаях роды были самопроизвольными, в 13,4% - оперативными.

В состоянии асфиксии родилось 42 ребенка, из них 29 (69%) детей - в легкой асфиксии, 13 (31%) - в асфиксии средней тяжести, что в дальнейшем повлияло на их психомоторное развитие.

У пациентов с ФКУ до начала диетического лечения были диагностированы: рахит I-III степени - у 35,3% детей, железодефицитная анемия – у 23%, атопический дерматит - у 22,3%, врожденные аномалии развития (грыжи передней брюшной стенки, паховые, аномалии развития сердца и скелета) – у 9,3%.

Среднее содержание фенилаланина крови до начала лечения значительно превышало линию «cut off», различий данного показателя в подгруппах IA ($28 \pm 7,2$ мг%) и IB ($28,1 \pm 8,2$) не было выявлено ($p = 0,789$), в подгруппе IC первичная диагностика проводилась с помощью качественной пробы Фёллинга, которая была резко положительная у всех больных. Ретроспективный анализ питания больных ФКУ до начала диетотерапии показал, что среди детей, рожденных в 1983-1993 гг, доля грудного вскармливания была значительно выше ($p = 0,002$) по сравнению с детьми, рожденными после 1995 г. Это, видимо, обусловлено повышением доступности детских молочных смесей и профессиональной занятостью матерей.

Установлено, что в раннем возрасте 113 (42%) больных с ФКУ 1983-1993 гг. рождения начали получать использовавшиеся в тот период несбалансированные по составу смеси, созданные на основе гидролизатов белка с ограниченным содержанием фенилаланина и высокой долей белкового эквивалента (более 40 г на 100 г сухого продукта), не обогащенные антиоксидантами и другими эссенциальными факторами питания. В диете 156 (58%) детей 1995-2012 гг. рождения применялись современные

специализированные смеси на основе аминокислот без фенилаланина, дифференцированные в возрастном аспекте по содержанию макро – и микронутриентов. Рационы детей обеих групп не имели значимых различий по содержанию натурального белка ($p=0,630$) и пищевого фенилаланина ($p=0,768$), но по количеству общего белка, назначаемого на кг массы тела, отличались: пациенты, рожденные в 1983-1993 гг получали его в 1,4 раза больше.

При рождении большинство (95%) пациентов с ФКУ имели физическое развитие, соответствовавшее средневозрастным величинам, значимых различий между подгруппами IA, IB и IC выявлено не было, что свидетельствовало о равных стартовых условиях развития пациентов.

Перед назначением диетического лечения в подгруппах IB и IC (пациенты с поздно установленным диагнозом) было в 1,4 раза больше детей ($p=0,028$) с низким значением Z-score длина/возраст (интервал $-2SD -1SD$) в рамках средневозрастных показателей, что свидетельствует о формировании хронической недостаточности питания на фоне метаболических нарушений.

Наряду с этим нами было установлено, что среди пациентов, получавших гипофенилаланиновую диету с включением продуктов лечебного питания, несбалансированных по макро- и микронутриентному составу, было в 4 раза больше детей с избыточной массой тела и ожирением ($p=0,031$), а также в 12 раз больше с недостаточностью питания ($p=0,007$) по сравнению с больными, находившимися на лечении современными специализированными продуктами на основе аминокислот без фенилаланина.

При несвоевременно установленном диагнозе и позднем начале диетотерапии отмечалось снижение числа пациентов со средневозрастными показателями физического развития в 1,3 раза ($p=0,014$), а также увеличение числа низкорослых детей в 10 раз ($p=0,011$), с недостаточностью питания в 6,5 раз ($p=0,009$), с ожирением в 7 раз ($p=0,047$) по сравнению с группой пациентов, которым своевременно был поставлен диагноз и начато лечение (табл. 5).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют, что при своевременном начале лечения и применении сбалансированных продуктов можно обеспечить нормальное физическое развитие пациентов с ФКУ.

Оценка неврологического статуса была проведена у 193 (72%) пациентов с фенилкетонурией перед началом гипофенилаланиновой диеты и на фоне ее проведения не менее 1 года.

Гипоксически-ишемические перинатальные повреждения ЦНС были выявлены у 42 детей с ФКУ, из них синдром церебральной возбудимости - у 21 (50%) и синдром церебральной депрессии – у 21 (50%) больного, при этом в подгруппах IA, IB и IC число больных ФКУ, имевших перинатальную патологию ЦНС, существенно не различалось.

Таблица 5

Изменения физического развития больных ФКУ в зависимости от начала назначения диетотерапии

Показатель	Z-scores					
	ниже-2 SD	от -2 до -1 SD	от -1 до +1 SD	от +1 до +2 SD	выше +2 SD	
Подгруппа IA, лечение начато до 3-х месячного возраста (n=189)						
Масса тела/возраст**	n	7	20	134	28	0
	%	4,0	96,0			0
	p	0,047**	0,010**			0,038**
Рост/возраст	n	3	13	97	62	4
	%	1,0	97,0			2,0
	p	0,011**	0,048**			0,508
ИМТ/возраст	n	4	50	124	9	2
	%	2,0	92,0		5,0	1,0
	p	0,009**	0,014**		0,412	0,047**
Объединенная подгруппа IB и IC, лечение начато после 3-х месячного возраста (n=80)						
Масса тела/возраст	n	10	9	37	20	4
Рост/возраст	n	8	23	36	12	1
	%	10,0	89,0			1,0
ИМТ/возраст	n	10	14	44	6	6
	%	13,0	73,0		7,0	7,0

Примечание: здесь *- выделенные колонки обозначают средневозрастные показатели Z-score.

** - уровень значимости различий (p) показателей подгрупп IA и IB+IC, значения статистически значимы при $p < 0,05$

До начала диетотерапии были установлены значимые различия психомоторного развития у больных ФКУ со своевременно установленным диагнозом и началом лечения (подгруппа IA) и у пациентов с поздно начатой терапией (подгруппа IB) по большинству параметров, характеризующих эмоциональную, сенсомоторную, когнитивную деятельность и предречевое развитие.

Среди детей с ФКУ, диагноз которым был поставлен до 3 месяцев жизни, было выявлено существенно большее число пациентов с нормальным психомоторным развитием ($p=0,000$) против больных с поздно установленным диагнозом, среди которых отмечено больше детей с нарушениями мышечного тонуса ($p=0,000$), цепных симметричных рефлексов ($p=0,020$), сенсомоторного поведения ($p=0,038$), а также пароксизмальных нарушений, в том числе инфантильных спазмов, абсансов с миоклоническим и фокальным компонентами ($p=0,009$).

Выявленные различия свидетельствуют о задержке психомоторного и предречевого развития больных ФКУ, а также о высоком риске раннего дебюта метаболических судорожных приступов при поздно установленном диагнозе.

Учитывая, что показатели фенилаланина в сыворотке крови, полученные в результате неонатального скрининга, не имели значимых различий, выраженные

изменения психоневрологического статуса у больных, не получавших диетического лечения, можно объяснить длительным воздействием фенилаланина и его метаболитов на организм, в первую очередь на состояние ЦНС.

Сравнение суммарных баллов, характеризующих психоневрологический статус детей с ФКУ до начала диетотерапии и через 12 месяцев ее проведения показало, что в подгруппе IA (больные, своевременно начавшие получать диетическое лечение) значительно увеличилось число детей с нормальным психомоторным развитием ($p=0,000$), снизилось число пациентов в группе риска по развитию неврологических нарушений ($p=0,000$) и с умеренными нарушениями ($p=0,000$). Положительную динамику ПМР у больных подгруппы IA можно объяснить снижением влияния перинатальных гипоксически-ишемических нарушений во втором полугодии жизни.

В подгруппе IB (дети с поздно начатым лечением) также была отмечена значимая положительная динамика: появились дети с нормальными показателями ПМР ($p=0,000$), уменьшилось число детей из группы риска ($p=0,001$) и с умеренными нарушениями ($p=0,004$), но не изменилось число детей с грубой задержкой ПМР (рис.1).

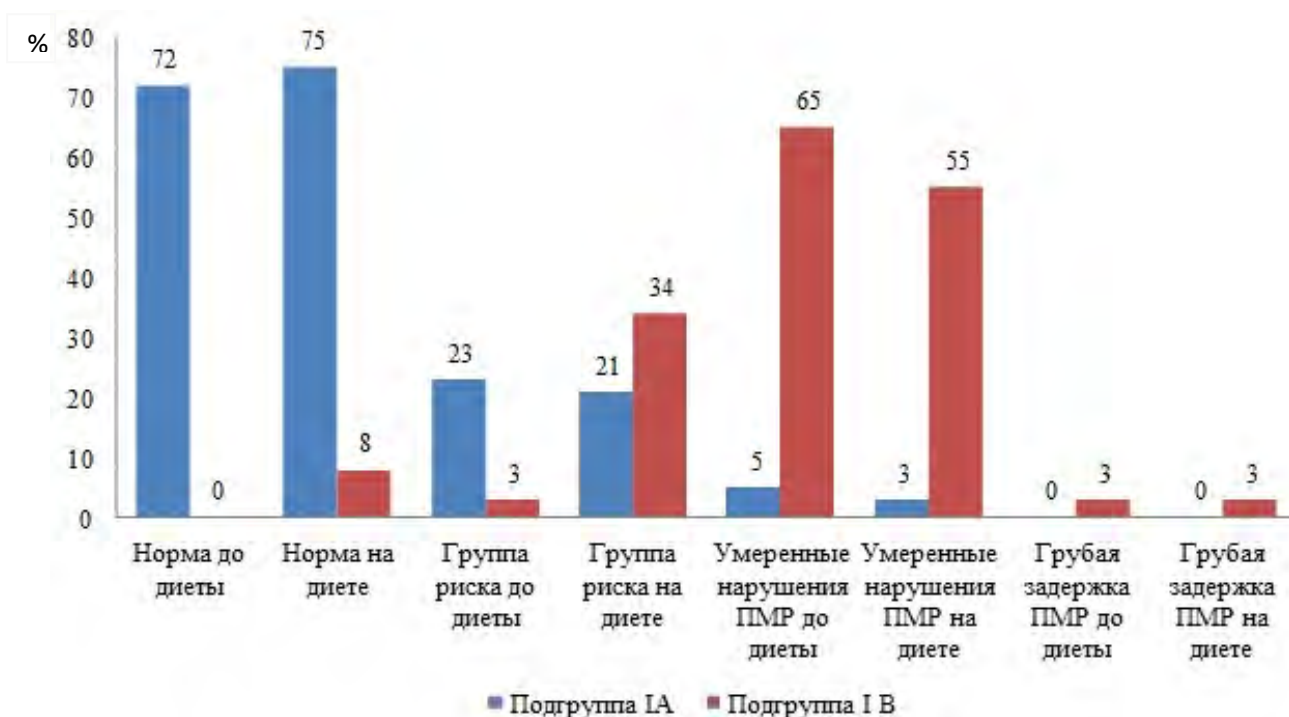


Рисунок 1. Изменения психомоторного развития больных с фенилкетонурией до и на фоне проведения гипофенилаланиновой диеты

Оценка отдаленных результатов лечения (более 1 года) больных с ФКУ выявила отклонения в психоречевой и моторной сферах, которые характеризовались эмоциональными и поведенческими нарушениями у 75 (28%) больных, расстройствами учебных навыков (познавательных и речевых функций, обработки информации) у 62 (23%) пациентов, умственной отсталостью легкой - у 44 (16%), умеренной - у 38 (14%) и тяжелой

степени - у 10 (3,8%) пациентов, невротическими расстройствами - у 27 (10%) больных. Специфические расстройства развития речи, гиперактивные расстройства наблюдались у 11 (4%) больных, специфические расстройства моторной функции - у 10 (3,8%).

Установлено существенное увеличение доли каждого из указанных выше расстройств у больных ФКУ с поздним началом лечения (подгруппы IB и IC) по сравнению с детьми, которые начали получать диетотерапию своевременно (подгруппа IA), $p < 0,05$. Наличие в подгруппе IA пациентов с фобическими тревожными расстройствами (5%) и невротическими реакциями (5%) и нарушениями поведения (7%) обусловлено как низкой комплаентностью, так и социальными факторами формирования личности пациента.

Таким образом, анализ изменений психоневрологического статуса пациентов с ФКУ показал, что до начала диетотерапии дети, выявленные по неонатальному скринингу, не имели существенных неврологических нарушений, за исключением небольшого числа больных, у которых патологические неврологические симптомы были связаны преимущественно с перинатальными гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС. У пациентов с поздно диагностированной ФКУ отмечались выраженные нарушения со стороны нервной системы и регресс ранее приобретенных навыков, который в отдельных случаях усугублялся перинатальным поражением ЦНС.

На фоне патогенетической гипофенилаланиновой диеты была выявлена положительная клиническая динамика у большинства пациентов с ФКУ в виде повышения суммарных баллов показателей их психомоторного развития, однако, у больных с поздно установленным диагнозом чаще отмечались умственная отсталость, эмоциональные, моторные нарушения, расстройства аутистического спектра.

Электроэнцефалографическое обследование, проведенное 80 больным на фоне диетотерапии установило, что из 42 обследованных пациентов подгруппы IA со своевременно поставленным диагнозом у 19 (45%) на ЭЭГ имели место признаки незрелости срединных структур мозга, активация диэнцефальных структур и диффузная дезорганизация альфа-ритма, что рассматривалось как вариант нормы при отсутствии жалоб и клинических симптомов; из 38 больных подгрупп IB и IC (поздно установленный диагноз) у 31 (82%) пациента фиксировались дезорганизация альфа-ритма, повышенный ответ на гипервентиляцию, полиспайк-разряды, высокоамплитудные бета-волны, у 7 (18%) пациентов выявлялась гипсаритмия в сочетании со спайк-разрядами, сопровождавшаяся эпизодами судорожных приступов у 2 взрослых больных.

Обследование с помощью МРТ было проведено у 17 пациентов (5 подростков из подгруппы IA, 4 – из подгруппы IB и 8 взрослых пациентов из подгруппы IC) с поздно диагностированным заболеванием и длительно находившихся на расширенной диете с увеличенной квотой натурального белка и пищевого фенилаланина. При этом признаки перивентрикулярной лейкопатии были выявлены у 7 (41%) больных: 1 пациент подгруппы

IA, родители которого не обеспечивали строгое соблюдение диеты со 2 года жизни, 2 подростка подгруппы IB и 4 взрослых пациента подгруппы IC, начавших лечение на 3-м году жизни с периодическими нарушениями, о чем свидетельствовало повышение фенилаланина в крови. Очевидно, что длительная экспозиция аномально высоких концентраций фенилаланина в крови больных в возрасте до 10 лет оказывает повреждающее действие на структуры головного мозга.

Таким образом, нарушения нервно-психического развития при ФКУ формируются преимущественно при поздно начатой диетотерапии и низкой комплаентности больного и членов его семьи.

Анализ качества жизни детей и подростков из подгрупп IA и IB (разные сроки начала лечения) выявил более высокий уровень КЖ у больных, которым лечение было начато до 3-х месяцев жизни, при этом были отмечены существенные различия по параметрам «социальное функционирование» ($p < 0,01$) и «функционирование в школе/детском саду» ($p < 0,05$). Однако у больных ФКУ сохранялись значимые различия по сравнению с группой контроля ($n=64$) – (рис 2).

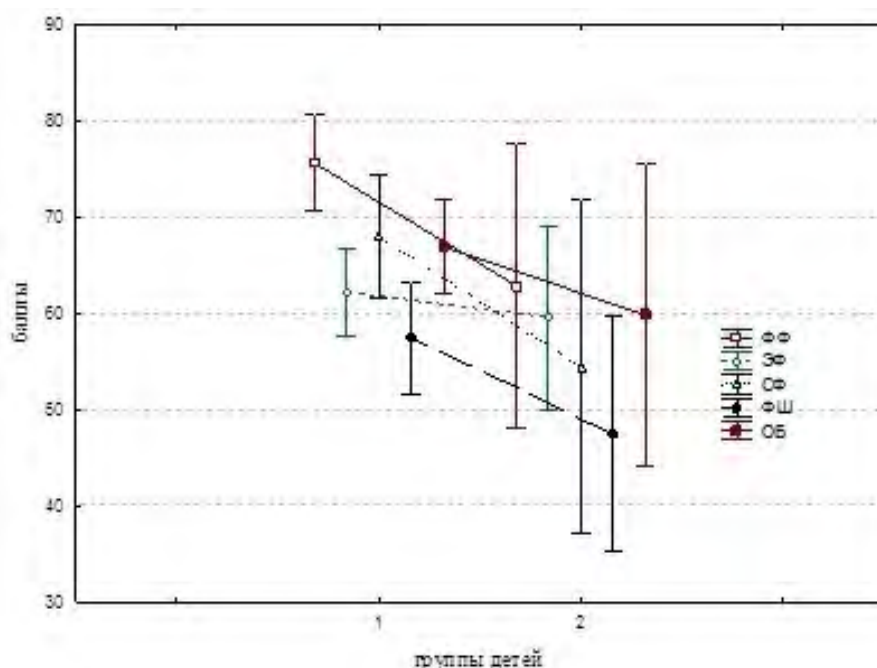


Рисунок 2. Изменения параметров качества жизни больных ФКУ в зависимости от начала лечения: раннее лечение (1), позднее лечение (2). Ме (25;75).

Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между параметрами социального и ролевого функционирования и сроками начала диетотерапии. Установлено, что чем позже начато лечение у больных ФКУ, тем ниже были показатели социального ($r_s = -0,336$, $p < 0,001$) и ролевого ($r_s = -0,251$, $p < 0,05$) функционирования, чем старше больной, тем ниже были показатели его адаптации в коллективе ($r_s = -0,205$, $p < 0,05$).

Оценка ответов родителей по качеству жизни больных ФКУ не выявила значимых различий с ответами их детей, что свидетельствовало об адекватной оценке родителями физического и психоэмоционального состояния собственных детей. Анализ региональных особенностей КЖ показал значимое снижение социального ($p < 0,05$) и ролевого ($p < 0,05$) функционирования у пациентов Уральского федерального округа (УФО) РФ по сравнению с больными Центрального федерального округа (ЦФО) РФ. Было выявлено более низкое социальное функционирование ($p < 0,05$) детей с ФКУ, проживавших в УФО по сравнению с пациентами Южного федерального округа. У пациентов из Приволжского федерального округа (ПФО) отмечено значимое ($p < 0,05$) снижение физического функционирования в сравнении с пациентами ЦФО. Это, вероятно, связано с тем, что большинству больных ФКУ из УФО и ПФО РФ лечение было начато после 3-х месяцев жизни в связи с удаленностью места жительства больных от медико-генетических центров, кроме того в указанных регионах были перерывы в лечении ФКУ из-за временного отсутствия специализированных продуктов.

Установленные различия параметров качества жизни у детей с ФКУ позволили определить самый уязвимый возрастной период - переход от дошкольного к школьному возрасту, когда в связи с увеличением умственной и физической нагрузки нарастает напряженность психоэмоциональных процессов и происходит снижение социальной адаптации и качества жизни больного ребенка. Именно в этом возрасте требуется более тщательный врачебный контроль за соблюдением больными гипофенилаланиновой диеты.

Расширение диеты у школьников за счет увеличения натурального белка в рационе приводит к снижению показателей социального поведения и некоторому повышению эмоционального тонуса. Можно полагать, что у детей дошкольного возраста жесткие диетические ограничения являются причиной более низкого эмоционального тонуса с одной стороны, с другой - стимулируют социальную и ролевую активность.

Таким образом, снижение качества жизни больных ФКУ выявляется преимущественно в подростковом возрасте, когда ослабевает надзор за соблюдением диеты со стороны родителей и врача, а сам пациент еще не готов к самоконтролю. При этом первостепенное значение в предотвращении психосоциальных и когнитивных расстройств имеет своевременная (доклиническая) диагностика и назначение диетотерапии сразу после установления диагноза, а также тщательная приверженность назначенному лечению в течение длительного времени, в том числе и в подростковом возрасте.

Установленные нами закономерности указывают на целесообразность проведения диетотерапии в течение всей жизни больных с ФКУ для поддержания уровня фенилаланина в терапевтических диапазонах, допустимых для каждой возрастной категории, что обеспечивает адекватный уровень социального и ролевого функционирования.

Важными аспектами работы явились оценка потребления пищевого натурального белка и его влияния на аминокислотный спектр крови больных, а также анализ биологической ценности специализированных продуктов, использующихся в диетотерапии пациентов с ФКУ в последние годы в РФ.

Для исследования аминокислотного спектра крови были отобраны 24 пациента из подгруппы IA с удовлетворительной комплаентностью, строго выполнявшие диетический режим, а именно - потребление назначенных врачом количеств натурального белка и аминокислотной смеси, соблюдение кратности ее приема. Из подгруппы IB было обследовано 22 ребенка, самостоятельно расширившие диету за счет натуральных продуктов. Взрослые пациенты (n=12) из подгруппы IC (поздно начавшие получать диетическое лечение), были заранее предупреждены об исследовании и поэтому старались придерживаться предписанной врачом диеты.

Нами установлено значимо большее потребление натурального белка и фенилаланина пациентами подгруппы IB по сравнению с больными подгрупп IA ($p=0,000$) и IC ($p=0,000$), а также натурального белка ($p=0,014$) и фенилаланина ($p=0,003$) пациентами подгруппы IC относительно подгруппы IA, что свидетельствует о необходимости более строгого соблюдения гипофенилаланиновой диеты больными ФКУ и поддержания контакта между врачом и пациентом.

Была выявлена тесная положительная корреляция между концентрациями пищевого фенилаланина ($r_s= 0,688$, $p<0,010$) и натурального белка ($r_s= 0,642$, $p<0,010$) с уровнем фенилаланина в плазме крови. В тоже время установлена отрицательная корреляция между уровнями тирозина в плазме крови больных, содержанием натурального белка ($r_s= -0,280$, $p<0,050$) и фенилаланина ($r_s= -0,289$, $p<0,050$) в пищевом рационе. Эти данные свидетельствуют о том, что пациенты, расширяющие диету, неосознанно ограничивают себя в натуральном белке, перестают использовать в питании необходимое количество специализированного продукта, что приводит к дисбалансу аминокислот в биологических средах организма.

Проведена оценка биологической ценности белкового эквивалента 7 специализированных продуктов различных производителей: Афенилак, ПАМ 1, ПАМ 3, ПАМ универсальный, MD мил ФКУ 0, MD мил ФКУ 1, MD мил ФКУ 3 по скору (содержанию) незаменимых аминокислот относительно их количества в «идеальном белке» - белке грудного молока. Согласно рекомендациям FAO WHO 2007, скор каждой незаменимой аминокислоты должен быть не менее 95%.

Впервые нами установлено, что в большинстве широко используемых в питании больных ФКУ специализированных смесей на основе аминокислот без фенилаланина скор эссенциальных аминокислот *лейцина, тирозина, триптофана и метионина* составляет 90% - 80% от рекомендуемых FAO WHO значений, что снижает биологическую ценность белкового эквивалента продуктов (рис. 3.).

Концентрации аминокислот в плазме крови больных ФКУ были в пределах референсных значений, однако, у пациентов, получавших исследуемые продукты, было отмечено значимое снижение содержания изолейцина ($p=0,004$), лейцина ($p=0,021$), треонина ($p=0,001$), а также тирозина ($p=0,003$) относительно больных, получавших продукты, в которых скор указанных аминокислот был выше 95%.

При этом выявлена отрицательная корреляция между уровнями фенилаланина в плазме крови больных и скором отдельных аминокислот исследуемых продуктов: метионина ($r_s=-0,388$, $p<0,010$), изолейцина ($r_s=-0,577$, $p<0,010$), тирозина ($r_s=-0,578$, $p<0,010$) и лизина ($r_s=-0,521$, $p<0,010$). Указанные аминокислоты являются эссенциальными и относятся к классу больших нейтральных аминокислот, которые имеют общие с фенилаланином транспортные системы для переноса из ЖКТ в кровеносную систему и через гематоэнцефалический барьер.

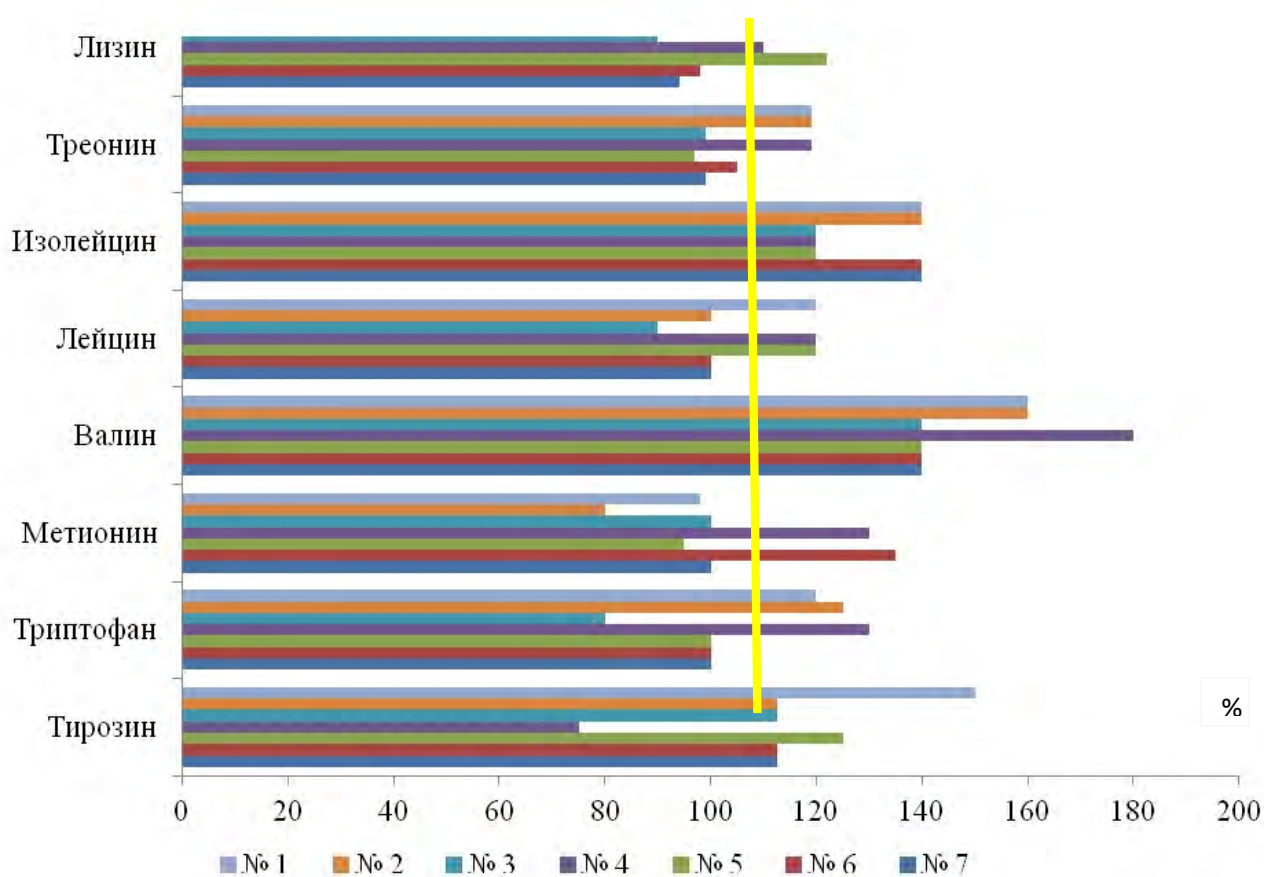


Рисунок 3. Скор незаменимых аминокислот в специализированных продуктах без фенилаланина. Номера специализированных продуктов: 1 - Афенилак, 2 - ПАМ 1, 3 - ПАМ 3, 4 - ПАМ универсальный, 5 - MD мил ФКУ 0, 6 - MD мил ФКУ 1, 7 - MD мил ФКУ 3.

Полученные данные указывают на конкурентные отношения фенилаланина и указанных аминокислот при их всасывании через слизистую оболочку ЖКТ (рис. 4-5).

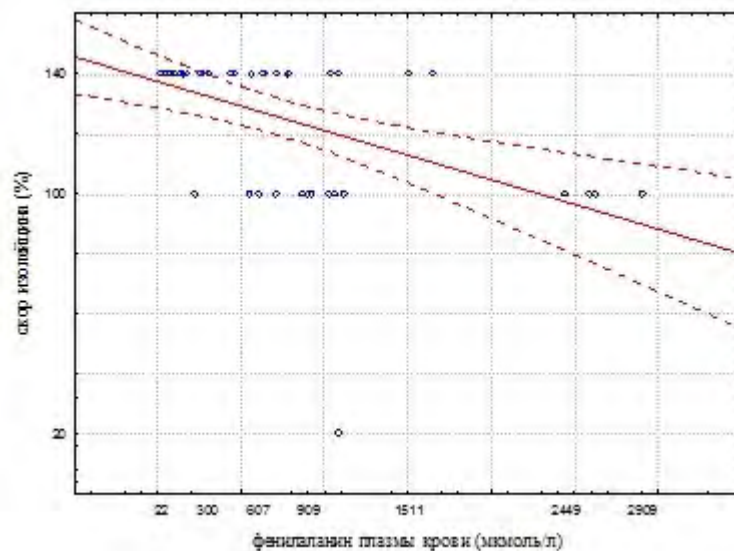


Рисунок 4. Корреляция между содержанием фенилаланина в плазме крови и скором изолейцина в аминокислотной смеси ($r_s=-0,577$, $p<0,010$).

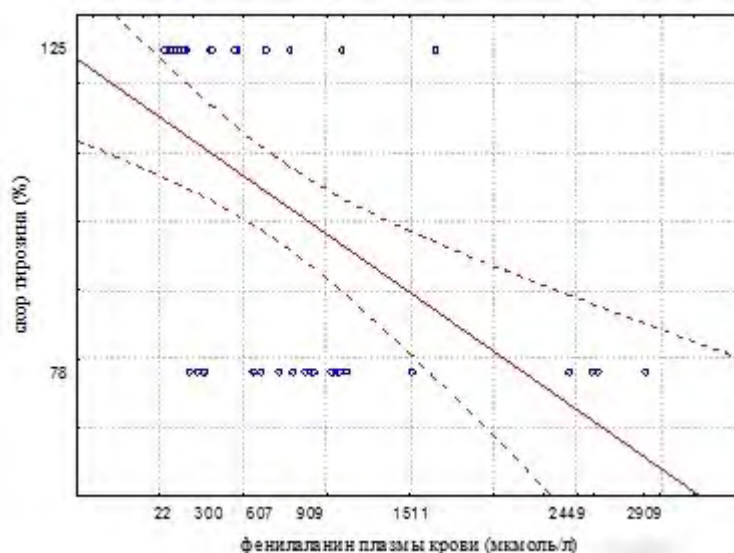


Рисунок 5. Корреляция между уровнем фенилаланина в плазме крови и скором тирозина в аминокислотной смеси ($r_s=-0,578$, $p<0,010$).

Установленные нами закономерности позволили сформулировать медико-биологическую концепцию создания отечественных специализированных продуктов повышенной биологической ценности, предназначенных для больных ФКУ различного возраста. В рамках Федеральной целевой программы «Дети России» на 2007-2010 гг. раздела «Разработка отечественных специальных продуктов питания при болезнях обмена веществ» совместно с ЗАО «Инфаприм» и ГНУ ВНИИ крахмалопродуктов РАСХН в период 2007-2012 гг нами были разработаны составы и рецептуры отечественных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина серии «Нутриген -phe» (табл. 6), дифференцированных по возрасту, низкобелковые полуфабрикаты для выпечки хлеба и

кондитерских изделий на основе крахмалов серий «Нутриген» и «Детка» и сухого безбелкового напитка с молочным вкусом на основе углеводно-жирового концентрата (патент № 2361409 от 20.07.2009 г), (табл. 7).

В настоящее время отечественные технологические возможности позволяют моделировать количественный и качественный состав специализированных продуктов, в том числе и на основе смеси аминокислот без фенилаланина за счет оптимизации их аминокислотного профиля, введения комплекса микронутриентов, включая витамины, макро- и микроэлементы, длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты, пребиотики и другие эссенциальные компоненты пищи. Впервые в отечественной практике в состав продуктов, предназначенных для больных ФКУ первого года жизни, введены пребиотики, комплекс докозогоксаеновой и арахидоновой кислот. В продукты для детей раннего и дошкольного возраста было введено адекватное количество жиров и углеводов, что значительно оптимизировало построение рационов необходимой энергетической ценности, продукты для пациентов старшего возраста были обогащены комплексом биологически активных веществ. Клиническая эффективность новых отечественных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина для больных ФКУ различных возрастных групп определялась путем оценки переносимости, динамики антропометрических и психоневрологических показателей, уровня фенилаланина крови (рис. 6).



Рисунок 6. Дизайн исследования по оценке переносимости и клинической эффективности новых специализированных продуктов отечественного производства на основе аминокислот без фенилаланина у больных фенилкетонурией.

Таблица 6

Новые отечественные продукты серий «Нутриген» и «Нутриген премиум» на основе аминокислот без фенилаланина для больных фенилкетонурией различного возраста

Название продукта	Возраст назначения	Пищевые вещества (г/100 г продукта)			Энергоценность (ккал/100 г продукта)	Витаминно-минеральный комплекс	Биологически активные вещества
		белковый эквивалент	жиры	углеводы			
Нутриген –phe 14 (ТУ 9197-045-37552800-2013)	0-12 мес	14	23	50,4	471	+	+
Нутриген–phe 20* (ТУ9197-046-37552800 -2013)	старше 1 года	20	18	50,4	444	+	+
Нутриген–phe 40** (ТУ9197-046-37552800 -2013)		40	13	31,4	403	+	+
Нутриген–phe 70*** (ТУ9197-046-37552800 -2013)		70	+	4,5	298	+	+
Нутриген 75*** (ТУ9197-037-37552800 -2012)		75	+	4,0	316	+	+

*предпочтительный возраст назначения продукта *- от 1 года до 3 лет; ** - от 3 до 7 лет;*** - детям старше 7 лет, взрослым и беременным женщинам с ФКУ

Таблица 7

Новые отечественные низко- и безбелковые продукты серий «Нутриген» и «Детка» на основе крахмалов и углеводно-жирового концентрата для больных фенилкетонурией

Название продукта	Возраст назначения	Пищевые вещества (г/100 г продукта)			Энергоценность (ккал/100 г продукта)	Витаминно-минеральный комплекс
		белки	жиры	углеводы		
Сухой безбелковый напиток «Нутриген» с молочным вкусом*(ТУ9197-040-37552800 -2012)	старше 1 года	-	21	71,5	475	+
Сухая низкобелковая смесь для выпечки хлеба «Нутриген» (ТУ9197-041-37552800 -2012)		1	3,2	79.8	352	-
Низкобелковый полуфабрикат для выпечки «Детка» 9187-087-00334735-03, изменение №2 от 08.05.2013г		1	1	90	344	-

*-продукт может использоваться у больных ФКУ старше 6 месяцев жизни.

При этом были установлены удовлетворительные органолептические свойства всех исследуемых продуктов, их хорошая переносимость пациентами с ФКУ.

Уровень фенилаланина в крови, как значимый показатель эффективности лечения ФКУ, на фоне использования новых отечественных продуктов серии «Нутриген» находился в пределах допустимых терапевтических значений. У вновь выявленных больных первых месяцев жизни содержание фенилаланина в крови при назначении продукта «Нутриген 14 -phe» существенно снижалось до рекомендуемого уровня ($p=0,001$).

Антропометрические показатели больных детей с отклонениями физического развития на фоне последовательного применения новых продуктов «Нутриген 20 -phe» и «Нутриген 40 -phe» у большинства пациентов имели положительную динамику, увеличилось число детей со средневозрастными величинами Z score ИМТ/возраст ($p=0,001$).

Важно отметить положительные изменения показателей психоневрологического статуса больных с ФКУ на фоне использования новых отечественных продуктов питания. У детей первого года жизни это были показатели, характеризующие процессы моторного и психоэмоционального развития: «цепные симметричные рефлексy» ($p=0,002$), «сенсорно-моторное поведение» ($p=0,000$), «патологические движения» ($p=0,012$), «голосовые реакции» ($p=0,045$). У пациентов старше 1 года существенно улучшились показатели «эмоциональный тонус» ($p=0,000$), «мышечный тонус и сила мышц» ($p=0,000$), что указывает на эффективность проводимой диетотерапии и адекватность развития детей (рис. 7).

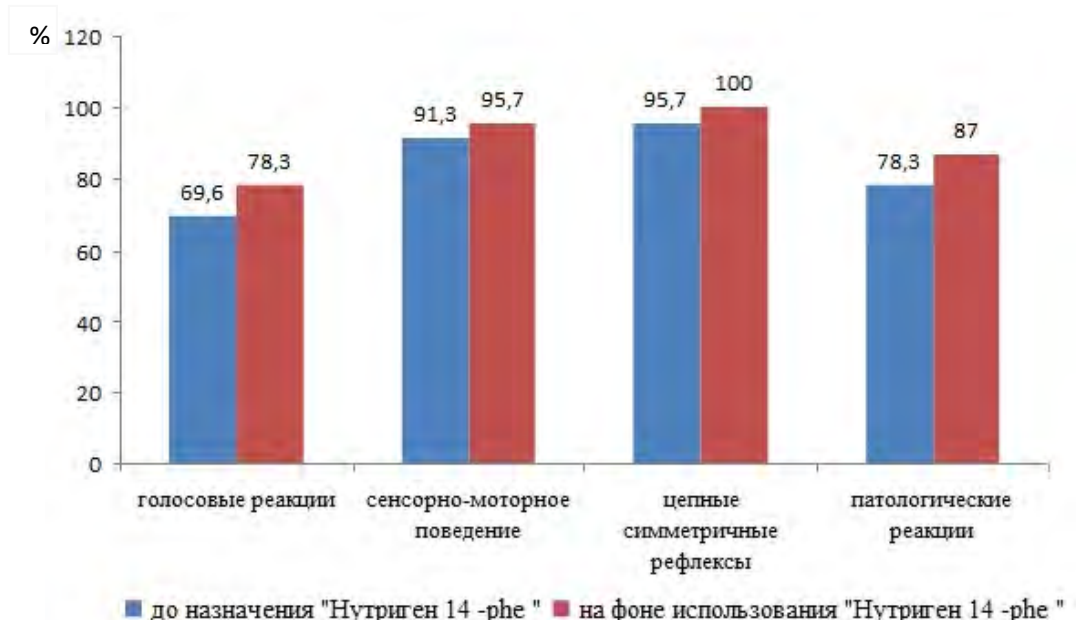


Рисунок 7. Изменения показателей психомоторного развития (%) детей первого года жизни до и на фоне применения продукта «Нутриген 14 -phe».

Таким образом, положительный эффект при использовании новых отечественных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина, предназначенных для больных ФКУ

разного возраста, определяется высокой биологической ценностью этих продуктов и оригинальным качественным составом, соответствующим возрастным потребностям больных. В период проведения исследований были отмечены: повышение комплаентности, более строгий контроль за соблюдением гипофенилаланиновой диеты и режима питания, увеличение кратности приема специализированного продукта, что способствует сохранению стабильного уровня фенилаланина в крови в течение суток и обеспечивало улучшение состояния больных.

Использование в составе гипофенилаланиновой диеты новых отечественных низкобелковых полуфабрикатов для выпечки хлеба и кондитерских изделий на основе крахмалов, а также сухого безбелкового напитка с молочным вкусом на основе углеводно-жирового концентрата позволило значительно расширить состав лечебного рациона, повысить его энергетическую и пищевую ценность.

Исследование иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови больных ФКУ показало, что при повышенном уровне фенилаланина количество В-лимфоцитов ($p=0,000$) снижено, а количество активированных Т-хелперов увеличено ($p=0,033$). У пациентов старше 12 лет с повышенным уровнем фенилаланина отмечалось снижение абсолютного числа Т-лимфоцитов преимущественно за счет цитотоксических Т-клеток ($p=0,002$) и снижение количества НК-клеток ($p=0,006$) (рис 8).

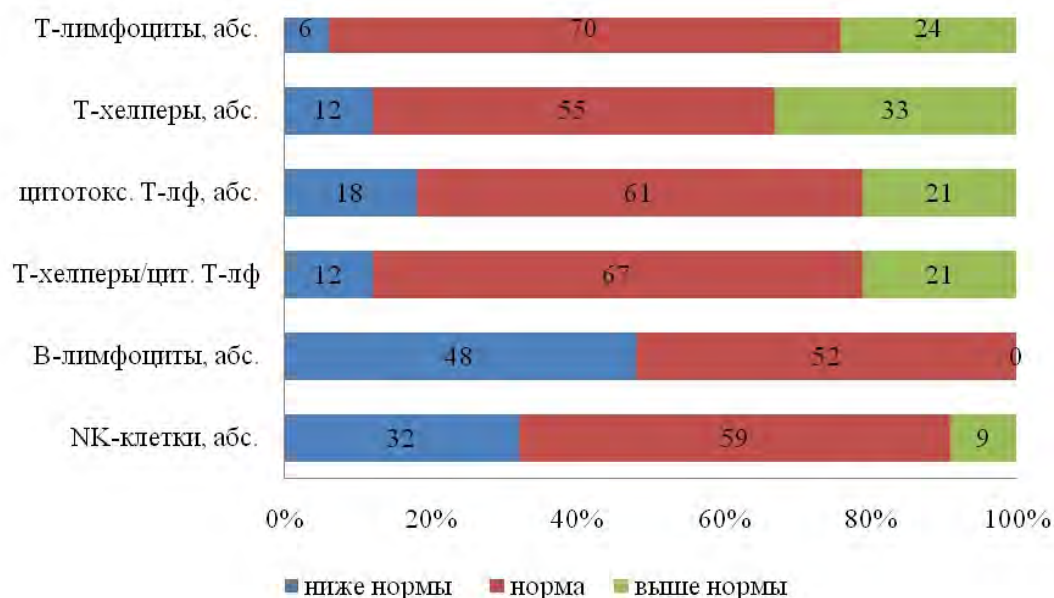


Рисунок 8. Изменения иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови больных с фенилкетонурией (%)

Установлено, что активность внутриклеточных ферментов СДГ, ЛДГ и НАДН-дегидрогеназы снижена у больных ФКУ младшего возраста и достигает референсных значений только у подростков. Активность НАДН-дегидрогеназы у взрослых больных ФКУ 1,4 раза выше таковой в группе сравнения ($p=0,000$) – рис.9.

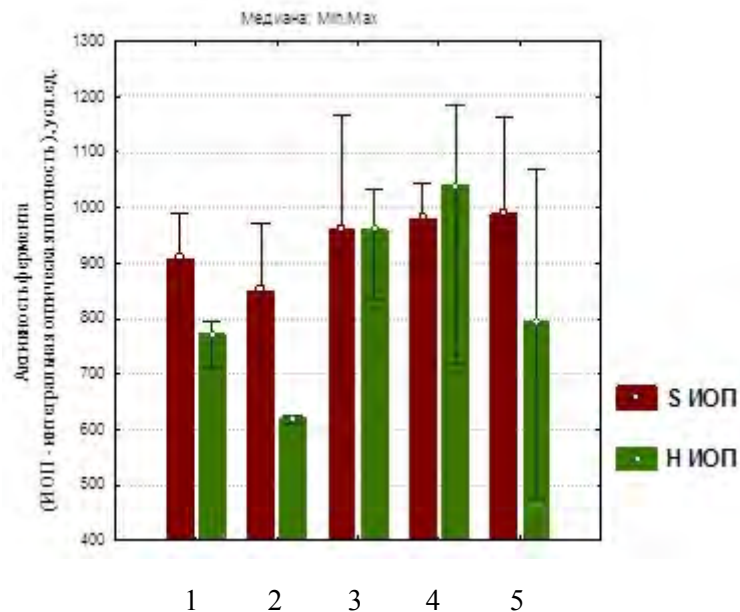


Рисунок 9. Активность внутриклеточных ферментов лимфоцитов (СДГ и НАДН –Д) у пациентов с фенилкетонурией в зависимости от возраста: от рождения до 2 лет (1), от 2 до 6 лет (2), от 12 до 18 лет (3), от 19 до 36 лет (4) и в группе сравнения (5).

Полученные результаты свидетельствуют об изменении иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови и активности внутриклеточных ферментов у больных ФКУ под действием повышенной концентрации фенилаланина, что указывает на целесообразность проведения пожизненной гипофенилаланиновой диеты.

Комплексные исследования, проведенные нами у детей с галактоземией, показали, что повышенный уровень галактозы в крови был выявлен у 92% новорожденных при неонатальном скрининге, лишь у 8% больных диагноз был поставлен в результате обследования в связи с тяжелой клинической симптоматикой, не поддающейся интенсивной терапии.

В соответствии с тяжестью состояния при первичном обращении за медицинской помощью эти больные были распределены на 3 подгруппы: подгруппа ПА - 39 (38,6%) пациентов с тяжелым дебютом заболевания (возраст на момент наблюдения от 5 дней до 16 лет), подгруппа ПВ – 28 (27,7%) детей со среднетяжелым течением болезни (возраст от 7 дней до 6 месяцев), подгруппа ПС- 34 (33,7%) ребенка с легкими проявлениями галактоземии (от 1,5 до 11 месяцев).

Состояние пациентов с галактоземией определялось как тяжелое при наличии прогрессирующей потери массы тела, геморрагического синдрома, симптомов угнетения ЦНС и полиорганной недостаточности, требующих применения комплексной интенсивной терапии и проведения гемотрансфузии. Уровень галактозы в крови этих больных был выше 20 мг%. У больных с галактоземией средней тяжести было отмечено повышение содержания галактозы в крови от 10 до 20 мг%, выявлялись умеренная гепатомегалия, синдром цитолиза, желтухи 1-2 степени, инфекции мочевых путей, синдром срыгивания.

При легком течении заболевания концентрации галактозы в крови определялись в интервале 7-10 мг%, клинические симптомы отсутствовали или были слабо выражены и характеризовались пищеварительными дисфункциями (срыгивания, неустойчивый стул), пограничными показателями активности трансаминаз печени, увеличением размеров печени.

Анализ семейной родословной показал, что в семьях 9% больных отмечались случаи неонатальной смертности, 3% детей имели сибсов с галактоземией, непереносимость молочных продуктов была отмечена у родителей 3% пациентов. Различные формы патологии сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда) были выявлены у родственников 47% детей, сахарный диабет 2 типа – в 15% семьях, онкологические заболевания, болезнь Жильбера и конституциональная низкорослость – в семьях 3% больных. 7 семейных пар страдали бесплодием, впоследствии у 6 из них родились дети, у которых была диагностирована классическая форма галактоземии. В результате экстракорпорального оплодотворения родились двое детей со среднетяжелой формой галактоземии (дизиготные близнецы).

В постнатальном периоде до получения результатов неонатального скрининга 68% младенцев находились на грудном вскармливании, 10% - получали грудное молоко и докорм адаптированными молочными смесями, 22% детей находились на искусственном вскармливании с использованием детских адаптированных смесей, в том числе 2 ребенка из семьи с отягощенным анамнезом по галактоземии с рождения получали безлактозную смесь на основе изолята соевого белка.

У 72% больных была выявлена гепатомегалия, срыгивания и упорные рвоты - у 45%, анорексия – у 38%, спленомегалия – у 37%, желтуха – у 34%, недостаточность питания – у 32%, геморрагический синдром – у 9% , катаракта - у 6% обследованных младенцев.

Из сопутствующей патологии у больных галактоземией часто встречались малые аномалии развития сердца (34%), дискинезия желчных путей (12%), инфекции мочевых путей и нефромегалия (по 7%), кишечные инфекции (6%), пузырно-мочеточниковый рефлюкс (2%).

Отмечено, что при рождении значимые различия массо-ростовых показателей у детей в указанных подгруппах отсутствовали. Перед назначением диетотерапии в неонатальном периоде показатель Z-score ИМТ/возраст у 80% детей с тяжелыми клиническими симптомами галактоземии был ниже -2SD, что свидетельствовало об острой недостаточности питания и было существенно больше, чем у больных со среднетяжелым ($p=0,000$) и легким ($p=0,000$) течением заболевания.

Установлено, что до получения результатов неонатального скрининга 33 (32,7%) ребенка были госпитализированы в отделения интенсивной терапии или реанимации новорожденных в связи с резким ухудшением состояния, которое характеризовалось

нарастанием интенсивности желтухи, быстро прогрессирующим геморрагическим синдромом, симптомами угнетением ЦНС, значительной потерей массы тела. При этом возраст детей варьировал от 5 до 14 суток жизни и составил в среднем $6,7 \pm 1,7$ суток. Сроки оповещения медицинского персонала детских поликлиник по месту жительства больных детей, а также их родителей о положительных результатах неонатального скрининга на галактоземию составляли в среднем $12 \pm 2,5$ суток (от 5 до 21 дней). В день получения положительного результата скрининга большинству детей назначали патогенетическую безлактозную/безгалактозную диету.

В случае поздней диагностики сроки назначения элиминационной диеты колебались от 23 дней до 2 месяцев жизни и в среднем составляли $36,4 \pm 4,2$ дня.

При этом нами были установлены значимые различия исходных концентраций общей галактозы в крови детей в исследуемых подгруппах: у пациентов подгруппы ПА уровень общей галактозы составил $68,7 \pm 14,5$ мг%, у большинства больных подгруппы ПВ этот показатель был существенно ниже – $15,0 \pm 2,54$ мг% ($p=0,000$), у детей подгруппы ПС отмечались самые низкие уровни общей галактозы в крови – $10,3 \pm 1,21$ мг% ($p=0,000$).

У двух sibсов из одной семьи, в которой первый ребенок умер от токсического гепатита, с рождения вскармливались смесью на основе изолята соевого белка и имели достаточно низкий уровень галактозы (8,0 и 7,3 мг% соответственно) по сравнению с остальными пациентами в их подгруппе. Однако, несмотря на низкие значения, данные показатели были выше отрезной линии («cut off»), установленной для первого этапа скрининга на галактоземию.

У всех пациентов определяли активность галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы (Г1ФУТ), что является «золотым стандартом» диагностики галактоземии, а также проводили ДНК диагностику. Снижение активности Г1ФУТ менее 10% от средних референсных значений было выявлено у 92% детей подгруппы ПА, от 10% до 25% средних значений активности фермента – у 8% пациентов данной подгруппы. У 36% больных подгруппы ПВ активность Г1ФУТ составляла от 10 до 25% от средних значений, у 64% больных была выше 25%, в подгруппе ПС все пациенты имели активность фермента выше 25% от средних референсных значений.

В подгруппе ПА мутация Q188R в гомозиготном состоянии была обнаружены у 62% больных, мутация K285N в гомозиготном состоянии – у 10% пациентов, более редкие мутации в гомозиготном состоянии – у 5%, при этом 15% больных являлись компаунд гетерозиготами по одной из частых и одной редкой мутации, у 8% детей мутация Q188R сочеталась с полиморфизмом Дуарте (N314D).

В подгруппе ПВ у большинства (92%) больных выявлено сочетание одной из мажорных мутаций (Q188R или K285N) с полиморфизмом N314D (68% и 25% соответственно), у 7% детей отмечалось сочетание редких мутаций с полиморфизмом Дуарте.

У 41% больных ПС подгруппы было установлено гетерозиготное носительство мажорной мутации Q188R, у 47% - гомозиготное состояние полиморфизма Дуарте, у 12% - компаунд гетерозиготное состояние редкой мутации и полиморфизма Дуарте (табл. 8).

Анализ состояния нервной системы больных галактоземией в неонатальном периоде показал, что 10 детей родились с признаками церебральной ишемии, из них 5 младенцев из подгруппы ПА, 4 – из подгруппы ПВ, 1 - из подгруппы ПС. Перинатальное поражение ЦНС у большинства (8) новорожденных детей характеризовалось синдромом угнетения, а у 2 младенцев отмечался синдром возбуждения ЦНС, что в дальнейшем могло повлиять на тяжесть неврологических симптомов.

Сравнительный анализ показателей психомоторного развития обследованных детей с галактоземией до назначения безлактозной/безгалактозной диеты показал высокую частоту выраженных неврологических нарушений у больных подгруппы ПА. У 7 детей этой подгруппы были выявлены грубые нарушения, что было значимо больше при сравнении с подгруппами ПВ и ПС.

Более низкие баллы, характеризующие задержку психомоторного развития больных подгруппы ПА (тяжелое течение галактоземии), были обусловлены нарушением психоэмоциональных функций: показатели «коммуникабельность» ($p=0,000$) и «голосовые реакции» ($p=0,000$), снижением активности безусловных рефлексов ($p=0,025$), сохранением ассиметричного шейно-тонического рефлекса ($p=0,002$), нарушением сенсомоторного поведения ($p=0,002$). Выраженные изменения со стороны черепных нервов были обусловлены нарушением функции зрительного (II пара) и глазодвигательного (III пара) нервов. Указанная неврологическая патология определялась в тех случаях, когда диагноз галактоземии был заподозрен в связи с тяжелым торпидным течением заболевания на фоне малой эффективности интенсивной медикаментозной терапии.

Для детей первого года жизни с галактоземией в соответствии с данными неонатального скрининга, тяжестью клинических проявлений (печеночная недостаточность, признаки поражения почек, степень недостаточности питания), с учетом лабораторных показателей, а также возрастных физиологических потребностей в основных пищевых веществах и энергии нами был разработан алгоритм назначения диетического лечения (рис 10).

Показатели активности галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы и результаты ДНК диагностики у детей с галактоземией I типа

Показатели		Подгруппы						Всего n= 101	
		IIA (n= 39)		IIB (n=28)		IIC (n=34)			
		n	%	n	%	N	%	n	%
Активность Г-1ФУТ (% от средних референсных значений)	<10%	36	92	-	-	-	-	36	35, 6
	10-25%	3	8	10	36	-	-	13	12,9
	>25%	-	-	18	64	34	100	52	51,5
Генотип (частые мутации Q188R,K285, полиморфизм N314D, редкие мутации –M, отсутствие мутации - N).	Q188R/Q188R	24	62	-	-	-	-	24	23,8
	K285N/K285N	4	10	-	-	-	-	4	4
	Q188R/N314D	3	8	19	68	-	-	22	21,8
	K285N/N314D	-	-	7	25	-	-	7	6,9
	M/ N314D	-	-	2	7	14	41	14	13,9
	Q188R/M	6	15	-	-	-	-	6	5,9
	M/M	2	5	-	-	-	-	2	2
	Q188R/ N	-	-	-	-	4	12	6	5,9
N314D/N314D	-	-	-	-	16	47	16	15,8	

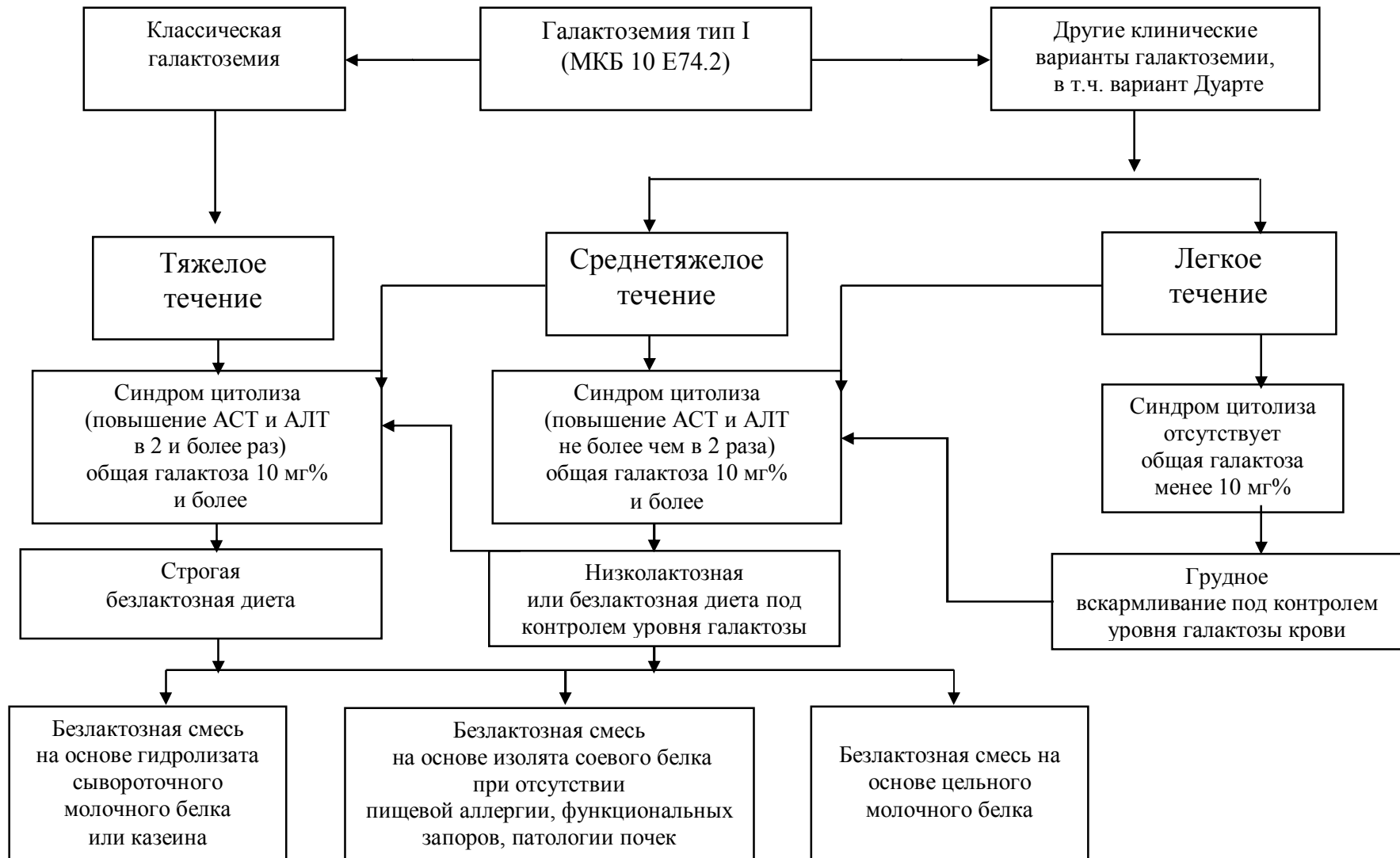


Рисунок 10. Алгоритм назначения диетотерапии при галактоземии I типа

Строгая безлактозная/безгалактозная диета была назначена 67,4% пациентам с тяжелым и среднетяжелым клиническим течением заболевания и уровнем галактозы крови более 10 мг%. В рационе 16,8% больных, имевших субклинические проявления болезни, лактоза была ограничена частично, дети переводились на смешанное вскармливание (грудное молоко с докормом безлактозной смесью). У 15,8% детей с повышенным уровнем галактозы крови до 10 мг%, выявленном при неонатальном скрининге, но не имевших клинических симптомов заболевания, лактоза в рационе не ограничивалась и сохранялось вскармливание грудным молоком или детской молочной смесью под контролем уровня галактозы крови.

В диете 27,8% детей использовались специализированные безлактозные/безгалактозные смеси на основе высокогидролизованного казеина или белков молочной сыворотки, 22,8% пациентов получали адаптированные казеинпредоминантные безлактозные смеси. Смеси на основе изолята соевого белка в связи с их повышенным аллергизирующим потенциалом и риском развития кристаллурии применялись в диетотерапии детей ограниченно - у 16,8% пациентов, не имевших признаков тяжелой полиорганной недостаточности.

Нами было показано, что по сравнению с грудным вскармливанием в рационах детей с использованием безлактозной смеси на основе изолята сои среднесуточная квота белка и углеводов была существенно большей ($p=0,000$ и $p=0,002$ соответственно).

В диетах на основе гидролизованной казеинпредоминантной смеси содержание белка, жира и углеводов было существенно большим ($p=0,000$ для всех показателей).

Применение смеси на основе высокогидролизованного сывороточного протеина значительно увеличивало содержание белка в рационе ($p=0,000$) при отсутствии различий в количестве жира и углеводов, что играет положительную роль при острой недостаточности питания и снижении белково-синтетической функции печени у больных с тяжелым течением галактоземии. Адаптированные безлактозные смеси значимо увеличивали квоту углеводов в рационе по сравнению с грудным вскармливанием ($p=0,001$).

Прикорм больным с галактоземией назначался в те же сроки, что и здоровым детям (в возрасте от 4 до 6 месяцев), в составе рациона присутствовали только безлактозные/безгалактозные блюда. Квоту белка исключенных из питания молочных продуктов компенсировали натуральными безлактозными продуктами (мясное пюре из кролика, индейки, цыпленка, рыба), для профилактики дефицита кальция назначали безлактозные препараты кальция карбоната и витамина D в профилактических возрастных дозировках.

Установлено, что на фоне элиминационной диеты с использованием специализированных безлактозных продуктов уровень общей галактозы в крови снижался, но оставался значительно повышенным по сравнению с уровнем галактозы в крови детей

группы сравнения (для больных подгрупп ПА и ПВ $p=0,000$; подгруппы ПС $p=0,007$) (табл.9).

Таблица 9

Изменения содержания общей галактозы в крови у детей с галактоземией через 1 месяц от начала проведения безлактозной/безгалактозной диеты

Уровень общей галактозы в крови (мг/дл)							Группа сравнения (n=20)*
подгруппы	ПА (n=39)		ПВ (n=28)		ПС (n=34)		
показатели	по скринингу	на диете	по скринингу	на диете	по скринингу	на диете	
М	63,1	2,39	15,6	2,3	10,3	1,79	1,35
σ	16,2	0,45	2,29	0,37	1,51	0,49	0,34
Min	35	1,4	12,8	1,3	7,9	0,8	0,7
Max	90	4	21	3	13	2,5	2,4
Медиана	68	2,2	15,3	2,45	10	2	1,3
25 квартиль	56	2	14	2,1	9,7	1,3	1,1
75 квартиль	70	2,7	16,8	2,6	11,1	2,2	1,6

* - группа сравнения – условно здоровые дети

У пациентов с повышенным уровнем общей галактозы по результатам неонатального скрининга, продолжавшим получать грудное молоко или адаптированные молочные смеси снижение уровня галактозы ниже линии «cut off» происходило спонтанно в течение месяца, что позволило и в дальнейшем сохранять в их питании молочную составляющую рациона.

Показатели психоневрологического статуса у пациентов с галактоземией оценивались через 1 год от начала проведения диетической и симптоматической терапии.

Анализ показателей психомоторного развития детей с галактоземией на фоне использования безлактозной/безгалактозной диеты выявил положительную динамику: ни в одной подгруппе детей не было выявлено больных с грубой задержкой психомоторного развития, увеличилось число пациентов с нормальными показателями ПМР, возросло число больных, отнесенных к группе риска по развитию неврологических нарушений.

В подгруппе ПА (больные с тяжелым течением заболевания) число пациентов с умеренными неврологическими нарушениями значительно уменьшилось с 62% до 21% ($p=0,022$), однако у 7,7% детей данной подгруппы были зафиксированы изменения на ЭЭГ в виде диффузных разрядов эпилептиформных комплексов «пик-волна» при отсутствии судорожных приступов.

На фоне безлактозной/безгалактозной диеты у 31% детей отмечались высокие показатели психомоторного развития ($p=0,000$), за счет снижения числа детей с умеренной и грубой задержкой ПМР увеличилась группа риска по развитию неврологических нарушений ($p=0,000$) –рис.11.



Рисунок 11. Изменения психомоторного развития больных с галактоземией до и на фоне проведения безлактозной/безгалактозной диеты.

Специфические расстройства учебных навыков были отмечены у 2 (5,2%) больных с галактоземией, обучающихся по индивидуальной программе, 12% детей данной подгруппы имели специфические двигательные расстройства в виде моторной неловкости, непостоянной атаксии при ходьбе.

Эмоциональные расстройства и нарушения поведения были выявлены у детей во всех исследуемых подгруппах: у 17,9% больных подгруппы IA, у 14,3% - подгруппы IB и у 5,1% детей подгруппы IC. При этом пациентов с нарушениями эмоциональной сферы было значительно больше в подгруппе IA по сравнению с подгруппой IC ($p=0,027$).

Оценка уровня речевых нарушений у детей в дошкольном возрасте показала, что самый низкий (I) уровень недоразвития речи имели 18% пациентов из подгруппы IA, гомозиготных по мутации Q188R, что было значительно больше в сравнении с подгруппами IB ($p=0,001$) и IC ($p=0,001$). II уровень общего недоразвития речи имели большинство (54%) детей подгруппы IA, 22% больных подгруппы IB и 15% - подгруппы IC. III уровень недоразвития речи был определен у 28% больных галактоземией подгруппы IA, 42% пациентов подгруппы IB и 32% детей подгруппы IC.

Нормальный уровень речевого развития был отмечен у 36% и 53% детей подгрупп IB и IC соответственно ($p=0,885$), в то время как в подгруппе IA таких детей не было выявлено ($p=0,885$).

Таким образом, нами показано, что у детей с тяжелым течением галактоземии отдаленные неврологические последствия отмечались чаще, чем при среднетяжелом и легком течении заболевания.

Установлено, что у большинства пациентов с галактоземией старше 2 лет количество В-лимфоцитов было снижено, остальные показатели иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови не зависели от возраста и не имели значимых отличий с группой сравнения (рис. 12).

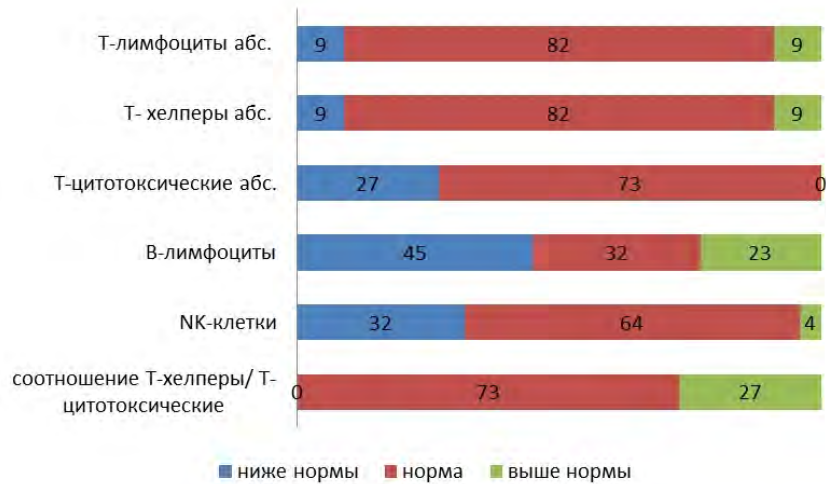


Рисунок 12. Изменения иммунофенотипа лимфоцитов у больных с галактоземией (%)

У больных галактоземией нами было установлено снижение общей активности СДГ (ИОП) ($p=0,003$), отсутствие значимых изменений общей активности НАДН-Д и ЛДГ (рис. 13) и снижение соотношения СДГ/НАДН-Д по сравнению с референтной группой.

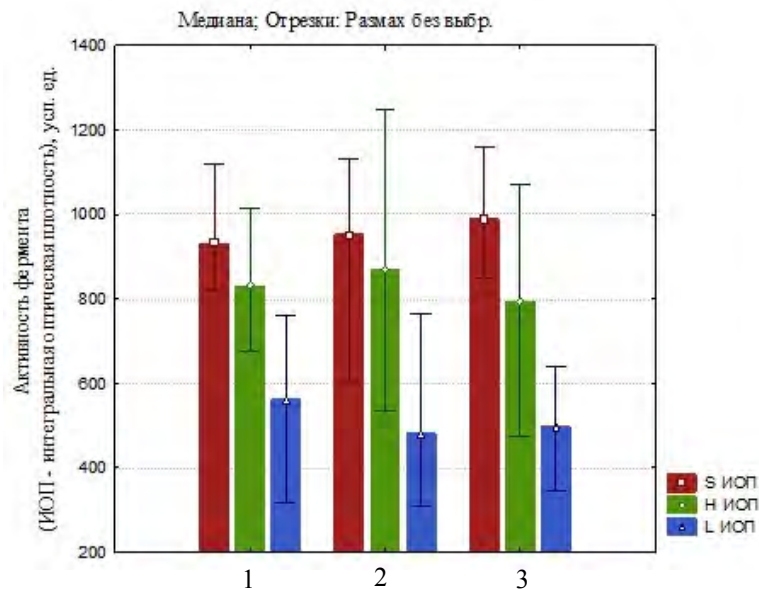


Рисунок 13. Изменения активности внутриклеточных ферментов у больных галактоземией различного возраста: от рождения до 2 лет (1), от 2 до 6 лет (2) и в группе сравнения (3).

Эти факты позволяют полагать, что на фоне безлактозной/безгалактозной диеты повышенный уровень галактозы за счет её эндогенного синтеза оказывает негативное воздействие на клетки иммунной системы, способствуя их апоптозу, и на активность внутриклеточных ферментов

ВЫВОДЫ

1. Показатели индекса массы тела по отношению к возрасту при рождении у 95% больных фенилкетонурией соответствуют средневозрастным параметрам. Своевременное назначение гипофенилаланиновой диеты с включением современных специализированных продуктов без фенилаланина, сбалансированных по макро- и микронутриентному составу позволяет сохранить их адекватное физическое развитие. У пациентов с поздно установленным диагнозом и отсроченным началом лечения низкорослость выявляется в 10 раз чаще, недостаточная масса тела - в 6,5 раз чаще и в 7 раз чаще – ожирение.
2. У детей с классической фенилкетонурией при рождении отсутствуют специфические клинические признаки заболевания и неврологическая симптоматика. Патология центральной нервной системы в неонатальном периоде у 42% детей обусловлена преимущественно перинатальным гипоксически- ишемическим поражением мозга.
3. Больные фенилкетонурией с поздно установленным диагнозом имеют выраженную задержку психомоторного развития и регресс ранее приобретенных навыков. На фоне патогенетической гипофенилаланиновой диеты, проводимой более трех лет, отмечается положительная динамика неврологических симптомов, однако, умственная отсталость различной выраженности у этих пациентов диагностируется в 5,3 раза чаще, чем у больных, выявленных по неонатальному скринингу. Признаки нейродегенеративных процессов в виде перивентрикулярной лейкопатии выявляются у 41% больных фенилкетонурией при поздно установленном диагнозе и низкой комплаентности в течение первых 10 лет жизни.
4. Качество жизни больных фенилкетонурией снижено по сравнению со здоровыми детьми. Своевременно начатое лечение (до 3-х месяцев жизни) позволяет повысить показатели психосоциального здоровья: эмоциональный тонус, адаптацию в дошкольных и школьных учреждениях, эффективность обучения. Нарушение гипофенилаланиновой диеты в подростковом возрасте снижает степень социальной адаптации больных детей и требует пристального врачебного контроля.
5. Применение специализированных продуктов без фенилаланина, имеющих скор незаменимых аминокислот менее 95%, приводит к снижению содержания аминокислот тирозина, треонина, лейцина и изолейцина и повышению фенилаланина в крови

больных, что указывает на конкурентные отношения больших нейтральных аминокислот и фенилаланина при поступлении в кровеносное русло.

6. Использование новых разработанных отечественных специализированных продуктов на основе аминокислот без фенилаланина, обогащенных полиненасыщенными жирными кислотами, олигосахаридами и эссенциальными микронутриентами оказывает положительное влияние на физическое и нервно-психическое развитие больных детей. Применение новых низкобелковых и безбелковых продуктов в диетотерапии больных фенилкетонурией позволяет оптимизировать лечебный рацион и значительно повысить его энергетическую ценность.
7. Повышенный уровень фенилаланина и длительность его экспозиции в крови больных существенно влияют на иммунофенотип лимфоцитов периферической крови и активность внутриклеточных ферментов. Снижение количества В-лимфоцитов, Т-цитотоксических клеток и NK-клеток сопровождается увеличением активности никотинаминадениндинуклеотд дегидрогеназы, что указывает на формирование хронического окислительного стресса при фенилкетонурии
8. Тяжесть клинических симптомов при галактоземии I типа зависит от степени снижения галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы. При классической галактоземии отмечается снижение ее активности менее 10% от нормы и развитие симптомов полиорганной недостаточности, поражения центральной нервной системы, нарушение нутритивного статуса в течение первых 10 дней жизни ребенка. При других клинических вариантах галактоземии, включая вариант Дуарте, активность галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы составляет более 10%, симптомы заболевания представлены пищеварительными дисфункциями, инфекцией мочевых путей, умеренной задержкой психомоторного развития.
9. У детей с классической галактоземией отмечается более выраженная задержка психомоторного развития, а отдаленные неврологические нарушения и недоразвитие речи выявляются значительно чаще, чем при других клинических вариантах галактоземии. Несмотря на проводимую диетотерапию и симптоматическое лечение, нарушения психоречевого, интеллектуального и двигательного развития, нейрорадиологические признаки поражения вещества головного мозга отмечаются у 18% больных с классической галактоземией.
10. Использование разработанного алгоритма назначения диетотерапии с учетом тяжести течения галактоземии I типа, содержания общей галактозы в крови и выраженности цитолиза, позволяет сохранить грудное вскармливание при ее легких вариантах, частично ограничить лактозу/галактозу в большинстве случаев при среднетяжелых формах и полностью ее исключить при тяжелом течении заболевания.

11. У детей с галактоземией на фоне использования новой отечественной безлактозной смеси «Нутрилак безлактозный+», созданной на основе молочного белка, концентрации общей галактозы в крови существенно не отличаются от ее содержания у больных, получающих детскую безмолочную смесь на основе изолята соевого белка.
12. Изменения иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови у больных с тяжелыми и среднетяжелыми формами галактоземии характеризуются уменьшением количества В-лимфоцитов и активности внутриклеточных ферментов, что может являться предиктором преждевременного клеточного апоптоза.

Практические рекомендации

1. Гипофенилаланиновая диета при фенилкетонурии должна назначаться сразу после установления диагноза при неонатальном скрининге и продолжаться пожизненно с учетом возрастной толерантности пациентов к пищевому фенилаланину.
2. При выборе специализированного продукта на основе аминокислот без фенилаланина для больных фенилкетонурией необходимо руководствоваться его биологической и пищевой ценностью.
3. При назначении безлактозных продуктов больным галактоземией рекомендуется использовать дифференцированный подход с учетом содержания общей галактозы в крови, изменений активности галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы и трансаминаз печени, формы и тяжести течения заболевания.
4. Для профилактики остеопороза у больных классической галактоземией старше 1 года рекомендуется использование безлактозных препаратов кальция и витамина D. При наличии неврологической симптоматики необходимо использовать противосудорожные, ноотропные и метаболические препараты, не содержащие лактозу.
5. Динамическое наблюдение и контроль за адекватностью диетотерапии при фенилкетонурии и галактоземии должны включать анализ фактического питания пациента, определение содержания фенилаланина и общей галактозы в крови, оценку показателей физического и нервно-психического развития.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Яцык Г.В., Боровик Т.Э., Митиш М.Д., Бушуева Т.В., Бомбардинова Е.П. Галактоземия у новорожденного // Вопросы современной педиатрии. 2007. - Т. 6, № 3 - С. 107-111.**
2. Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Грибакин С.Г., Скворцова В.А., Бушуева Т.В., Вознесенская Т.С. с соавт. Клиническая диетология детского возраста. Руководство для врачей. Москва, 2008.-608 с.
3. **Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Рыбакова Е.П., Ладодо К.С. Современные подходы к организации диетотерапии при галактоземии у детей // Вопросы детской диетологии. - 2008. - Т.6, № 2. - С. 44-48.**
4. **Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Рыбакова Е.П., Ладодо К.С., Денисенкова Е.В., Романенко О.П. с соавт. Результаты клинической апробации новых низкобелковых продуктов отечественного производства // Вопросы современной педиатрии. - 2008. - Т.7, №4 - С. 115-118.**
5. **Журкова Н.В., Кондакова О.Б., Бушуева Т.В., Рыбакова Е.П., Боровик Т.Э. Клиника, дифференциальная диагностика и лечение галактоземии у детей // Вопросы современной педиатрии. - 2008. - Т.7, №5. - С. 71-74.**
6. Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Рыбакова Е.П., Ладодо К.С., Степанова Т.Н. Состав безбелковой смеси для диетического питания детей с наследственными нарушениями аминокислотного обмена. - Патент на изобретение РФ. Rus № 2361409 15.02.2008
7. Бушуева Т.В. Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Скворцова В.А., Рославцева Е.А., Сажинов Г.Ю. с соавт. Состав безлактозной смеси для диетического питания детей с галактоземией. - Патент на изобретение РФ. - Rus № 2402928 от 09.02.2009.
8. Баранов А.А., Алексеева Е.И., Антонова Е.В., Боровик Т.Э., Ботвиньева В.В., Бушуева Т.В. с соавт. Руководство по амбулаторно-поликлинической педиатрии. Руководство для врачей. Москва, 2009. 2-е изд., испр.и доп.. – 592 с.
9. **Бушуева Т.В., Боровик Т.Э. Современные принципы организации лечебного питания у детей разного возраста с фенилкетонурией // Вопросы современной педиатрии. - 2010. - Т.9, № 2. - С. 124-129.**
10. **Боровик Т.Э., Семенова Н.Н., Рославцева Е.А., Бушуева Т.В., Скворцова В.А., Лукоянова О.Л. Использование современных детских лечебных и профилактических смесей в питании детей раннего возраста // Вопросы детской диетологии. - 2010. - Т.8, №5. - С. 70-75.**
11. **Бушуева Т.В. Современный взгляд на проблему фенилкетонурии у детей: диагностика, клиника, лечение // Вопросы современной педиатрии. - 2010. - Т.9, № 1. - С. 157-160.**
12. **Турсунхужаева С.Ш., Студеникин В.М., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Шелковский В.И., Пак Л.А. Вариантные формы галактоземии в детской неврологии: нейрогенетика, соматоневрология и нейродиетология. // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2010. - Т.19, №3 - С. 64-65.**
13. **Турсунхужаева С.Ш., Студеникин В.М., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Шелковский В.И., Пак Л.А. Классическая галактоземия в детской неврологии: нейрогенетика, соматоневрология и нейродиетология. // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2010. - Т.19, №3 - С. 66-67.**
14. Боровик Т.Э., Конь И.Я., Скворцова В.А., Бушуева Т.В., Гмошинская М.В., Грибакин С.Г. с соавт. Лечебное питание детей первого года жизни. Клинические рекомендации для педиатров. – Москва. – 2011. – 160 с.

15. Боровик Т.Э., Скворцова В.А., Макарова С.Г., Семенова Н.Н., Степанова Т.Н., Бушуева Т.В. с соавт.. Питание здорового и больного ребенка Пособие для врачей. Москва, 2011. (5-е издание) – 280 с.
16. **Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Степанова Т.Н., Семенова Н.Н. Соя и ее роль в питании детей // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т.10, №1. - С. 77-82.**
17. **Студеникин В.М., Бушуева Т.В., Боровик Т.Э. Фенилкетонурия у детей и ее лечение //Лечащий врач. – 2011. - №9. – С. 55-60.**
18. Быкова С.Т., Буравлева Т.Н., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Степанова Т.Н., Скворцова В.А. с соавт. Пищевая композиция для использования в продуктах питания детей, больных фенилкетонурией. - Патент на изобретение РФ. Rus № 2462050 от 08.04.2011.
19. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Ильин А.Г., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Ладодо К.С. с соавт. Организация профилактической и лечебной работы в домах ребенка. - Методические рекомендации. Москва, 2012. - 2-е изд., доп. и перераб. -76 с.
20. Студеникин В.М., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Турсунхужаева С.Ш., Шелковский В.И., Пак Л.А. с соавт. Метаболические формулы в детской неврологии: нейродиетология в действии // Эффективная фармакотерапия. – 2012 - №13. - С. 36-43.
21. Студеникин В.М., Звонкова Н.Г., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Шелковский В.И., Пак Л.А. с соавт. Альтернативные и дополнительные методы нефармакологического лечения эпилепсии (часть 1) // Эффективная фармакотерапия. – 2012. - №14. - С. 42-51.
22. Студеникин В.М., Звонкова Н.Г., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Шелковский В.И., Пак Л.А. с соавт. Альтернативные и дополнительные методы нефармакологического лечения эпилепсии (часть 2) // Эффективная фармакотерапия. – 2012 - № 16. - С. 48-51.
23. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Алексеева Е.И., Алексеева А.А., Алтунин В.В., Бушуева Т.В. с соавт..Атлас редких болезней. - Москва. – 2013. - 304 с.
24. Bushueva T.V., Kurbatova O.V., Semenova G.F., Samohina I.V., Borovik T.E., Petichuk S.V.. Features of cellular immunity and intracellular enzyme activity in PKU patients // J Inherit Metab Dis. – 2013. –Vol.37, Suppl 1. - S. 60-61.
25. Bushueva T.,V., Borovick T., Solovyova Ju., Mazanova N., Bakanov M., Lyazina L. Abstracts Amino acids content in the blood of adolescents with phenylketonuria 6th Euro paediatrics conference. – 2013. - С. 89.
26. **Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Ладодо К.С., Тимофеева А.Г., Конь И.Я., Круглик В.И., Волкова И.Н. Диетотерапия при классической фенилкетонурии: критерии выбора специализированных продуктов без фенилаланина. // Вопросы современной педиатрии. - 2013. - Т. 12, №5. - С. 40-48.**
27. **Быкова С.Т., Буравлёва Т.Н., Калинина Т.Г., Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Бушуева Т.В. Пищевая композиция для приготовления продуктов детского питания // Пищевая промышленность. – 2013. - № 12. - С. 11-14.**
28. Боровик Т.Э., Звонкова Н.Г., Скворцова В.А., Семенова Н.Н., Лукоянова О.Л., Бушуева Т.В., Степанова Т.Н. Современные подходы к организации прикорма в рамках национальной программы оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации // Эффективная фармакотерапия. - 2013. - № 30. - С. 8-13.
29. Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Скворцова В.А., Бушуева Т.В., Макарова С.Г., Лукоянова О.Л., Семёнова Н.Н., Рославцева Е.А., Звонкова Н.Г., Кутафина Е.К., Степанова Т.Н., Тимофеева А.Г., Чумбадзе Т.Р. Вклад отечественных ученых и производителей продуктов питания для здоровых и больных детей в реализацию "Национальной программы оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации" –Москва. – 2014. - 74 с.

30. Студеникин В.М., Шамансуров Ш.Ш., Акоев Ю.С., Андреев Н.В., Бомбардинова Е.П., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Журкова Н.В., Звонкова Н.Г., Кузенкова Л.М., Мигали А.В., Пинаева А.Р. Неонатальная неврология. – Москва. - 2014. – 480 с.
31. Бушуева Т.В., Винярская И.В., Черников В., Боровик Т.Э., Кузенкова Л.М. Оценка качества жизни детей, больных фенилкетонурией // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. - № 11-12. - С. 39-45.
32. Бушуева Т.В., Кузенкова Л.М., Боровик Т.Э., Назаренко Л.П., Сеитова Г.Н., Филимонова М.Н. с соавт. Открытое несравнительное клиническое исследование III фазы по оценке частоты ответа и безопасности сапроптерина у пациентов с фенилкетонурией и гиперфенилаланинемией // Вестник Российской академии медицинских наук. -2014.- №7-8. - С. 69-77.
33. Быкова С.Т., Буравлёва Т.Н., Калинина Т.Г., Боровик Т.Э., Лододо К.С., Бушуева Т.В. Использование инулина в диетических продуктах детского питания // Пищевая промышленность. - 2014. - № 2. - С. 32-33.
34. Быкова С.Т., Калинина Т.Г., Ананских В.В., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В. Применение жирных кислот для обогащения продуктов детского питания больных фенилкетонурией // Достижения науки и техники АПК. - 2014. - Т. 28, №11. - С. 74-76.
35. Bushueva T.V., Vinyarskaya I.V., Chernikov V.V., Borovik T.E, Kuzenkova L.M.. Assessment of the quality of life in Russian children with phenylketonuria. // J Inherit Metab Dis. – 2014. – Vol.37, Suppl 1. - S. 60-61.
36. Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Вознесенская Т.С., Захарова И.Н., Звонкова Н.Г., Кутафина Е.К. с соавт. Клиническая диетология детского возраста. Руководство для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. – Москва. - 2015. – 717 с.
37. Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Скворцова В.А., Бушуева Т.В., Семенова Н.Н., Кутафина Е.К. с соавт. Специализированные продукты питания для детей с различной патологией. Изд. 5-е, перераб. и доп. – Москва. -2015. – 200 с..
38. Бушуева Т.В., Боровик Т.Э., Ладодо К.С., Кузенкова Л.М., Маслова О.И., Геворкян А.К. Оценка физического развития у детей с классической фенилкетонурией // Вопросы питания.- 2015. -Т. 84, №2. – с.34-43.
39. Курбатова О.В., Бушуева Т.В., Самохина И.В., Мирошкина Л.В., Фрейдлин Е.В., Кузенкова Л.М., Боровик Т.Э., Петричук С.В. Особенности иммунного статуса лимфоцитов периферической крови у больных фенилкетонурией // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9 (18), № 2(1). – С. 136-138.
40. Aguiar A, Ahring K, Almeida MF, Assoun M, Belanger Quintana A, Bushueva T. et al. Practices in prescribing protein substitutes for PKU in Europe: No uniformity of approach // Mol Genet Metab. – 2015. - Vol. 115, №1 - P.17-22.
41. Bushueva T.V., Kurbatova O.V., Samohina I.V., Miroshkina L.V., Fredlin E.F., Kuzenkova L.M., Borovik T.E., Petichuk S.V. The effect of elevated blood phenylalanine level on the immune status of PKU patients // J Inherit Metab Dis. – 2015. - Vol.38, Suppl 1. - S. 108
42. Альбицкий В.Ю., Баранов А.А., Беляева И.А., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Гребенников В.А. с соавт. Неонатальный скрининг новорожденных. В кн.: Современные медико-социальные проблемы неонатологии / Под ред. А.А. Баранова, Г.В.Яцык М.: ПедиатрЪ, 2015 – с 53-104.
43. Альбицкий В.Ю., Баранов А.А., Беляева И.А., Боровик Т.Э., Бушуева Т.В., Гребенников В.А. с соавт. Генетически заболевания и пороки развития. В кн.: Современные медико-социальные проблемы неонатологии / Под ред. А.А. Баранова, Г.В.Яцык М.: ПедиатрЪ, 2015 – с 106-121.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НБО	наследственные болезни обмена веществ
ФКУ	фенилкетонурия
ЦНС	центральная нервная система
ПМР	психомоторное развитие
ФА	фенилаланин
Г1ФУТ	галактозо-1-фосфат уридилтрансфераза
СДГ	сукцинатдегидрогеназа
НАДН-Д	никотинамидадениндинуклеотид дегидрогеназа
ЛДГ	лактатдегидрогеназа
ЭЭГ	электроэнцефалограмма
МРТ	магнитно-резонансная томография
КЖ	качество жизни
ФФ	физическое функционирование
ЭФ	эмоциональное функционирование
СФ	социальное функционирование
ФШ	функционирование в детском учреждении (школа/сад)
ОБ	общий балл
FAO WHO	Food and Agriculture Organization of World Health Organization (продовольственная и сельскохозяйственная организация Всемирной организации здравоохранения)