

*На правах рукописи*



**Нистарова Анастасия Витальевна**

**ВОДНО-СОЛЕВОЙ ОБМЕН И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПРИ  
МУКОВИСЦИДОЗЕ У ДЕТЕЙ**

3.1.21. – Педиатрия;

1.5.5. – Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2022 г.

Работа выполнена на кафедре факультетской педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в лаборатории физиологии почки и водно-солевого обмена федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук.

**Научные руководители:**

Кузнецова Алла Александровна – доктор медицинских наук, доцент

Наточин Юрий Викторович – академик РАН, доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Петросян Эдита Константиновна** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной педиатрии им. академика В.А. Таболина ПФ, профессор

**Лобов Геннадий Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, заведующий лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «13» февраля 2023 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.062.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, д. 39) и на сайте ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России <http://gpmu.org>

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент

**Тыртова Людмила Викторовна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность исследования**

Муковисцидоз (МВ) относится к орфанным заболеваниям с частотой распространения 1:9000 новорожденных в Российской Федерации [Кистозный фиброз (муковисцидоз), 2020]. МВ – генетически детерминированное заболевание, в основе которого лежат мутации гена, кодирующего белок CFTR (трансмембранный регулятор проводимости), что нарушает функции экзокринных желез [Капранов Н.И., 2014; Кистозный фиброз (муковисцидоз), 2020]. Белок CFTR локализуется в апикальной мембране клеток эпителия, где функционирует как хлорный канал и обеспечивает транспорт ионов через плазматическую мембрану экзокринной клетки [Zhang L.F., 2017]. Дефект белка CFTR сопровождается нарушением транспорта ионов хлора, что изменяет электролитный состав секретируемых жидкостей, и они становятся чрезмерно густыми и вязкими [Кистозный фиброз (муковисцидоз), 2020].

В клинической симптоматике МВ доминирует поражение дыхательного тракта (хронический бронхит, бронхоэктазы, хронический риносинусит и др.), желудочно-кишечного тракта (недостаточность экзокринной функции поджелудочной железы, мекониевый илеус и др.), в некоторых случаях встречается синдром электролитных нарушений [Кистозный фиброз (муковисцидоз), 2020]. Известно, что мРНК CFTR экспрессируется в клетках ряда сегментов почечных канальцев, вызванное им нарушение функций почек в большинстве случаев носит вторичный характер, и связано с развитием хронической бактериальной инфекции, а проведение антибактериальной терапии зачастую оказывает нефротоксический эффект [Crawford I., 1991; Morales M.M., 1996; Andrieux A., 2010].

При исследовании функции почек у детей с МВ выявлены протеинурия, гематурия, ферментурия, гиперкальциурия, гипероксалурия [Кондратенко О.В., 2007; Esfandiar N., 2020]. Имеются данные об изменении скорости клубочковой фильтрации при МВ, способности почек к осмотическому концентрированию и разведению мочи [Andrieux A., 2010; Кондратенко О.В., 2008]. Остаются нерешенными вопросы состоянии резервных возможностей систем водно-солевого обмена, процессов транспорта ионов и воды в почках, их роли в патогенезе МВ, что требует разработки и проведения функциональных нагрузочных проб.

### **Цель исследования**

Исследование состояния водно-солевого обмена и особенностей функции почек у детей при МВ.

### **Задачи исследования**

1. Изучение состояния осморегулирующей функции почек у пациентов с МВ.

2. Разработка варианта адекватного теста с применением водной нагрузки и критериев его оценки в педиатрической практике.
3. Изучение физиологических механизмов основных симптомов нарушения деятельности почек у пациентов с МВ.
4. Разработка критериев диагностики синдрома неадекватной секреции вазопрессина при МВ и пневмонии у детей.
5. Сравнительное изучение соотношения и концентрации катионов в сыворотке крови при орфанных заболеваниях органов дыхания (МВ, первичная цилиарная дискинезия) и внебольничной пневмонии у детей.

### **Научная новизна**

Получены новые данные о состоянии водно-солевого обмена и функции почек при МВ у детей.

Впервые использованы новые подходы для расчета скорости клубочковой фильтрации и оценки осморегулирующей функции почки при МВ у детей, установлена сохранность процесса гломерулярной фильтрации и способности почек к осмотическому концентрированию и разведению мочи.

Использование методов клиренса осмотически свободной воды и клиренса свободной от натрия воды впервые показало высокую чувствительность почек к осмоляльности сыворотки крови для стабилизации объема клеток при МВ у детей.

Впервые разработаны и предложены критерии модифицированной функциональной пробы для изучения осморегулирующей функции почек у детей с применением 1% водной нагрузки и непродолжительной водной депривации для использования в педиатрической практике.

Разработанным методом впервые выявлена избыточная концентрация вазопрессина в пробах мочи при водной нагрузке у пациентов с тяжелым течением пневмонии для диагностики синдрома неадекватной секреции вазопрессина.

Впервые рассчитано  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови при МВ и некоторых формах патологии легких (внебольничная пневмония, первичная цилиарная дискинезия) и установлено резкое увеличение этого показателя при ухудшении клинического состояния пациентов.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость результатов диссертационного исследования заключается в выяснении патогенетических механизмов для дифференциальной диагностики основных симптомов нарушения функции почек при МВ у детей.

Полученные результаты расширяют представление об особенностях осморегулирующей функции почек у пациентов с МВ. Разработка и внедрение критериев нового варианта пробы с

водной нагрузкой и водной депривацией позволяет оценить осморегулирующую функцию почки у пациентов в педиатрической практике, а также диагностировать синдром неадекватной секреции вазопрессина у пациентов с МВ и внебольничной пневмонией.

Расчет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношения в сыворотке крови научно обоснован и предложен для использования в дифференциальной диагностике как критерий тяжести состояния пациента при сочетании МВ с синдромом псевдо-Барттера.

Результаты диссертации используются в работе врачей аллергологов-пульмонологов педиатрического (аллерго-пульмонологического) отделения №2 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, эти данные включены в лекции и практические занятия для студентов, клинических ординаторов кафедры факультетской педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Использование основных антропометрических показателей физического развития у пациентов с МВ позволяет избежать ложной оценки и завышения величины клубочковой фильтрации по клиренсу креатинина, который у этих детей со сниженной мышечной массой не отражает истинного значения скорости клубочковой фильтрации.

2. Осморегулирующая функция почек у пациентов с МВ не нарушена, она отличается высокой чувствительностью к осмоляльности сыворотки крови. Этот параметр направлен на участие почек в стабилизации объема клеток организма, показана необходимость расчета клиренса почкой свободной от натрия воды.

3. Разработана функциональная проба с кратковременной депривацией и последующей водной нагрузкой в объеме 10 мл/кг массы тела, что позволяет оценить осморегулирующую функцию почек в педиатрической практике.

4. Синдром неадекватной секреции вазопрессина у пациентов с внебольничной пневмонией и МВ обусловлен избыточной секрецией антидиуретического гормона и высокой реабсорбцией осмотически свободной воды даже в условиях водной нагрузки. Этот синдром верифицирован по сочетанию высокой концентрации вазопрессина в моче и низкой осмоляльности сыворотки крови.

5. Расчет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношения в сыворотке крови может рассматриваться как один из ключевых параметров состояния системы водно-солевого обмена. Этот показатель при обследованных формах патологии легких отражает тяжесть течения заболевания.

### **Обоснование достоверности и апробация полученных данных**

Достоверность полученных результатов исследования обусловлена использованием современных методов исследования, репрезентативностью и достаточным объемом выборки.

Результаты диссертационного исследования доложены на XXI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», Санкт-Петербург, 14 апреля 2018; XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», Санкт-Петербург, 20 апреля 2019; VI Съезде физиологов СНГ, VI Съезде биохимиков России, IX Российском симпозиуме «Белки и пептиды», Сочи, Дагомыс, 1-6 октября 2019; XXIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», посвященной 25-летию медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, 26 сентября 2020; XVI Всероссийской конференции с международным участием «Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели», Санкт-Петербург, 19-22 октября 2020 года; XXVII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины - 2021», Санкт-Петербург, 25-26 марта 2021 года.

Диссертационная работа выполнена в рамках гранта РНФ №18-15-00358 «Молекулярные и системные механизмы интегрированного ответа почки в водно-солевом гомеостазе» (руководитель гранта академик РАН, доктор биологических наук, профессор Наточин Юрий Викторович).

### **Личный вклад автора**

Автором лично подобрана отечественная и зарубежная литература по теме диссертационного исследования, поставлена цель и определены задачи настоящей работы, составлен протокол обследования пациентов с использованием критериев включения и исключения, собраны и проанализированы данные на основе первичной документации пациентов. Диссертант самостоятельно проводила нагрузочные пробы у пациентов, сбор и подготовку биоматериалов для лабораторного исследования. Результаты обследования пациентов, приведенные в диссертационной работе, получены и проанализированы лично автором. Диссертантом самостоятельно проведены: статистический анализ полученных данных, подготовка и написание всех глав, основных положений, выводов, практических рекомендаций диссертационного исследования. На основании материалов исследования автор принимала участие в подготовке научных публикаций, выступала на конференциях и конгрессах всероссийского и международного уровней.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 4 статьи, в изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 125 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 44 отечественных и 158 иностранных источника. Диссертация иллюстрирована 10 таблицами и 24 рисунками.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы исследования**

В период 2017 – 2020 гг. обследовано 136 детей в возрасте от 3 месяцев до 18 лет (девочки – 50 (37 %), мальчики – 86 (63%)), на базе педиатрического (аллерго-пульмонологического) отделения №2 ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России. Группа пациентов с МВ составила 50 детей, из них 22 девочки (44%) и 28 (56%) мальчиков. Медиана возраста составила 7,3 [4,3; 11,9]. Критерии включения:

- пациенты с верифицированным диагнозом МВ по результатам положительного потового теста, подтвержденного ДНК-диагностикой (наличие 2 мутаций CFTR, вызывающие МВ, согласно базе CFTR-2 <http://www.cftr2.org>);
- возраст пациентов от 3 месяцев до 18 лет;
- согласие пациентов и их родителей на проведение обследования и функциональных нагрузочных проб.

Критерии исключения: отказ пациентов и их родителей на проведение обследования и функциональных нагрузочных проб.

Группа сравнения составила 50 пациентов с внебольничной пневмонией (ВП) (девочки – 17 (34%), мальчики – 33 (66%)), медиана возраста 12 [7; 15] и 11 пациентов с первичной цилиарной дискинезией (ПЦД) (девочки – 7 (64%), мальчики – 4 (36%)). Медиана возраста составила 9 [6; 14]. В группу контроля вошли 25 здоровых детей (девочки – 14 (56%), мальчики – 11 (44%)). Медиана возраста составила 16 [13; 16].

Методы изучения сыворотки крови и мочи включали осмометрию (Advanced Instruments, Inc 3300), атомно-абсорбционную спектрофотометрию (Shimadzu AA-6200), пламенную фотометрию (Sherwood-42), определение концентрации вазопрессина, копептина с помощью

иммуноферментного анализа. Пациентам с МВ была проведена потовая проба и генетическое исследование.

Пациентам было проведены пробы на осмотическое концентрирование и на осмотическое разведение мочи (рисунок 1). На основании полученных данных рассчитывали показатели, характеризующие функциональное состояние почек [Наточин Ю.В., 1997]. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) была рассчитана двумя способами: по клиренсу креатинина и по формуле Шварца. Показатели функций почек рассчитывали и нормализовали на  $1,73 \text{ м}^2$  площади поверхности тела.

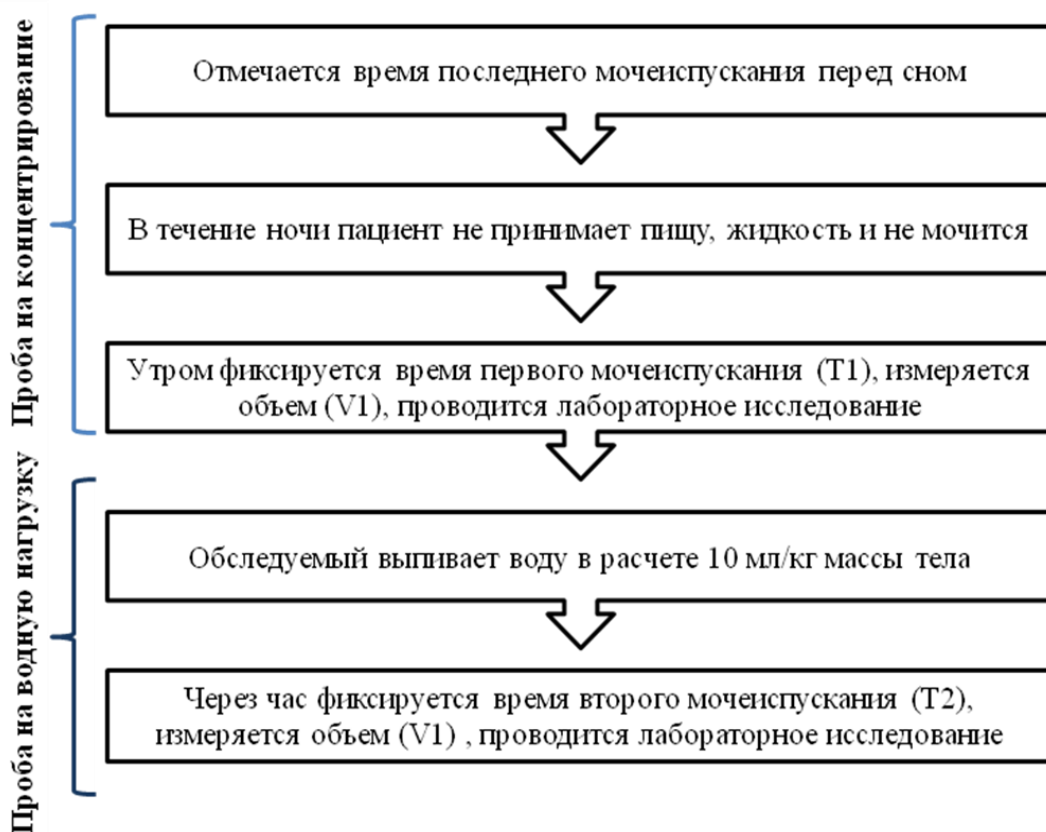


Рисунок 1 – Алгоритм проведения нагрузочных проб у детей

Статистическую обработку осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2007 и STATISTICA 6.0., используя методы параметрического и непараметрического анализа. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

Обследованные пациенты с МВ имели смешанную форму заболевания. Проведенное молекулярно-генетическое исследование пациентов с МВ показало, что наиболее распространенная мутация у обследованных нами пациентов F508del составила 66% (33 ребенка). У 16 детей мутация встречалась в гомозиготном состоянии (F508del/F508del), что составило 32% от общего числа генетически обследованных больных. У 46% пациентов с МВ



были выражены симптомы нарушения функции почки: увеличение клиренса креатинина, гипостенурия, изменение мочевого осадка в виде оксалурии, фосфатурии, кальциурии, протеинурии, лейкоцитурии, эритроцитурии, глюкозурии. Эти симптомы чаще встречались при мутации F508del, тяжелом течении заболевания и при рецидивирующем высеве в мокроте синегнойной палочки. Вероятно, большая часть симптомов нарушения функции почки носит вторичный характер и является проявлением тубулоинтерстициального процесса и нефротоксичности, обусловленной приемом антибиотиков из группы аминогликозидов.

Сопоставление данных лабораторного обследования у пациентов с МВ и здоровых детей показало, что осмоляльность и концентрация ионов (натрий, калий, хлор, кальций, магний) в сыворотке крови у пациентов с МВ соответствуют стандартным значениям нормы у детей. Концентрация креатинина в сыворотке крови была ниже у пациентов с МВ по сравнению со здоровыми детьми и пациентами с ВП (таблица 1).

Таблица 1 – Физико-химические показатели сыворотки крови пациентов в обследованных группах, Me [Q1; Q3]

Параметры:	ЗД, n = 25	МВ, n = 50	ПЦД, n = 11	ВП, n = 50
$P_{Na}$ , ммоль/л	139 [139; 140]	140 [138; 141] <sup>#</sup>	140 [140; 143] <sup>*</sup>	142 [140; 145] <sup>*β</sup>
$P_K$ , ммоль/л	4.5 [4.2; 4.7]	4.4 [4.2; 4.6]	4.3 [4.1; 4.5]	4.4 [4.0; 4.7]
$P_{Cl}$ , ммоль/л	103 [103; 104]	104 [103; 106]	106 [105; 108] <sup>*β</sup>	101 [98; 105] <sup>Δ</sup>
$P_{Ca}$ , ммоль/л	2.4 [2.3; 2.5]	2.5 [2.3; 2.6]	2.5 [2.4; 2.5]	2.5 [2.4; 2.7]
$P_{Mg}$ , ммоль/л	0.82 [0.80; 0.85]	0.84 [0.75; 0.91]	0.81 [0.8; 0.82]	0.82 [0.75; 0.87]
$P_{Osm}$ , мОсм/кг H <sub>2</sub> O	287 [285; 289]	291 [289; 293]	287 [282; 291]	287 [282; 291]
$P_{Cr}$ , мкмоль/л	78 [74; 83]	48 [42; 55] <sup>**</sup>	50 [49; 56] <sup>**</sup>	80 [70; 86] <sup>βΔ</sup>

Примечание: ЗД – здоровые дети. \*p < 0,05 к группе здоровые дети; #p < 0,05 к ВП; βp < 0,05 к пациентам с МВ; Δp < 0,05 к пациентам с ПЦД.

СКФ по формуле Шварца у пациентов с МВ составила 123 [110; 143] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, что укладывалось в значения нормы и статистически значимо не отличалось от здоровых детей. При расчете скорости клубочковой фильтрации по данным клиренса креатинина ( $C_{Cr}$ ), у большинства пациентов с МВ выявлены нормальные значения 97 [74; 112] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. У 10 детей клиренс креатинина был резко повышен 178 [169; 211] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> площади поверхности тела. Был проведен анализ причины высоких расчетных значений клиренса креатинина. Содержание креатинина в крови зависит от объема мышечной массы. У детей с МВ мышечная масса развита слабее, что могло предопределять меньшую концентрацию креатинина в крови. Для проверки высказанного предположения были проведены

дополнительные расчеты. Сопоставление данных о массе тела у пациентов с МВ и расчет значения этого показателя в зависимости от возраста, роста и массы данного ребенка показало, что имеются значительное снижение массы тела у обследованных детей, которое составляет около 15%. В связи с этим расчетное значение гломерулярной фильтрации у обследованных детей (на основании клиренса креатинина) было сопоставлено с значением гломерулярной фильтрации, исходя из возраста, роста и массы тела,  $p < 0,001$ . Полученные результаты показали, что при учете этого фактора,  $C_{Cr}$  при МВ не отличается от здоровых детей данной возрастной категории (рисунок 2).

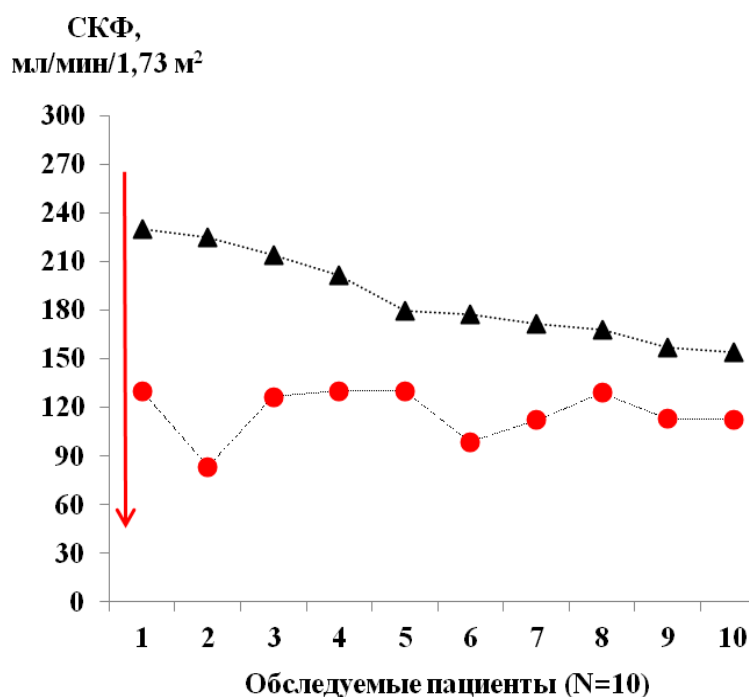


Рисунок 2 – Сопоставление расчетного значения СКФ (по клиренсу креатинина) – треугольники с клиренсом – кружки, исходя из возраста, роста и массы тела ребенка

*Осморегулирующая функция почки после водной депривации.* У пациентов с МВ осмоляльность проб мочи была выше осмоляльности сыворотки крови 594 [481; 777] мОсм/кг  $H_2O$ , она достигала высоких значений ночью – 985 мОсм/кг  $H_2O$ . Концентрационный показатель ночью возрастал до 3,4, значения клиренса осмотически свободной воды принимали отрицательные значения, что свидетельствовало об ее реабсорбции. У пациентов с МВ диурез был значительно выше ( $p < 0,05$ ), чем у здоровых детей, преимущественно за счет возрастания клиренса натрия ( $p < 0,05$ ) и клиренса осмотически активных веществ ( $p < 0,05$ ) (таблица 2). Полученные результаты демонстрируют, что у пациентов с МВ сохранена способность почки к осмотическому концентрированию мочи, о чем свидетельствует высокая осмоляльности проб мочи и отрицательные значения клиренса осмотически свободной воды, а увеличение диуреза у

пациентов с МВ происходит за счет салуреза – большей экскреции в первую очередь ионов натрия.

*Осморегулирующая функция почки после водной нагрузки.* После водной нагрузки у пациентов с МВ наблюдалось трехкратное увеличение диуреза (таблица 2), за счет роста экскреции, преимущественно, осмотически свободной воды и осмотически активных веществ. Происходило снижение осмоляльности проб мочи, которая в большинстве случаев была ниже осмоляльности крови, минимальные значения достигали 110 мОсм / кг H<sub>2</sub>O, а значение концентрационного показателя после водной нагрузки были менее 1. Клиренс осмотически активных веществ не отличался у пациентов с МВ от обследованных детей с ВП ( $p > 0,05$ ) и здоровых детей ( $p > 0,05$ ). Клиренс натрия был выше у пациентов с МВ по сравнению со здоровыми детьми ( $p < 0,05$ ) (таблица 2), его значение не изменилось после водной нагрузки ( $p > 0,05$ ) (таблица 2). СКФ статистически значимо не изменилась после водной нагрузки у пациентов с МВ (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние водной нагрузки в объеме 10 мл на кг массы тела у детей на функциональное состояние почек при МВ, ВП и у здоровых детей, Ме [Q1; Q3]

Параметры функции почки	муковисцидоз n = 19		пневмония n = 44		контроль n = 25	
	исходный период	водная нагрузка	исходный период	водная нагрузка	исходный период	водная нагрузка
V, мл/мин	1.1 [0.6; 1.3]	3.6 [2.5; 4.4]*	0.5 [0.3; 0.7]	2.1 [1.1; 2.6]*	0.3 [0.2; 0.5]	2.9 [2.1; 3.3]*
U <sub>Osm</sub> , мОсм/кг H <sub>2</sub> O	594 [481; 777]	197 [171; 279]*	665 [548; 897]	283 [160; 575]*	880 [774; 991]	193 [142; 337]*
U <sub>Osm1</sub> - U <sub>Osm2</sub>	354 [228; 494]		344 [182; 532]		656 [534; 738]	
U <sub>Osm</sub> /P <sub>Osm</sub>	2 [1.7; 2.6]	0.7 [0.6; 1.0]*	2.3 [1.9; 3.1]	1 [0.6; 2.0]*	3.0 [2.6; 3.3]	0.6 [0.5; 1.1]*
C <sub>Osm</sub> , мл/мин	1.8 [1.7; 2.1]	2.6 [1.9; 3.0]*	1.3 [0.9; 1.6]	1.6 [1.2; 2.3]*	1.0 [0.7; 1.4]	1.9 [1.6; 2.4]*
C <sub>H2O</sub> , мл/мин	-1.0 [-1.2; -0.6]	1.0 [0.2; 1.8]*	-0.6 [-0.9; -0.5]	0.1 [-0.8; 1.0]*	-0.6 [-0.8; -0.5]	1.1 [-0.5; 1.8]*
T <sup>C</sup> <sub>H2O</sub>	1.0 [0.6; 1.2]	-1.0 [-1.8; -0.2]*	0.6 [0.5; 0.9]	-0.1 [-1.0; 0.8]*	0.6 [0.5; 0.8]	-1.1 [-1.8; 0.5]*
C <sub>Cr</sub> , мл/мин	120 [88; 171]	96 [82; 108]	91 [72; 125]	92 [69; 115]	112 [96; 130]	122 [106; 149]
C <sub>Na</sub> , мл/мин	0.7 [0.5; 1.0]	1 [0.6; 1.4]	0.3 [0.2; 0.6]	0.4 [0.3; 0.7]	0.3 [0.2; 0.4]	0.6 [0.4; 0.7]*
C <sub>K</sub> , мл/мин	6.5 [5.8; 9.4]	17.6 [9.7; 21.4]*	5.4 [3.7; 7.4]	10 [6.9; 18.5]*	4.8 [4.0; 8.3]	17 [11.6; 26.4]*
C <sup>Na</sup> <sub>H2O</sub> , мл/мин	0.12 [-0.04; 0.4]	2.5 [1.4; 3.2]*	0.1 [-0.1; 0.3]	1.3 [0.4; 2.0]*	0.05 [-0.04; 0.12]	2.1 [1.4; 3.1]*
C <sup>K</sup> <sub>H2O</sub> , мл/мин	-5.4 [-8.5; -4.9]	-14.2 [-16.9; -5.3]*	-4.7 [-7.0; -3.3]	-8.1 [-15.6; -4.9]*	-4.4 [-7.8; -3.8]	-14.1 [-23.7; -8.3]*

Примечание: \*p<0,05 к исходному периоду. V – диурез; U<sub>Osm</sub> – осмоляльность мочи; U<sub>Osm</sub>/P<sub>Osm</sub> – концентрационный показатель осмотически активных веществ; C<sub>Osm</sub> – клиренс осмотически активных веществ; C<sub>H2O</sub> – клиренс осмотически свободной воды; T<sup>C</sup><sub>H2O</sub> – реабсорбция осмотически свободной воды; C<sub>Cr</sub>, C<sub>Na</sub>, C<sub>K</sub> – клиренс креатинина, натрия, калия соответственно; C<sup>Na</sup><sub>H2O</sub>, C<sup>K</sup><sub>H2O</sub> – клиренс воды, свободной от ионов натрия, калия, соответственно.

*Критерии оценки реакции системы осморегуляции на введения воды в объеме 10 мл/кг массы тела.* Проба с водной нагрузкой демонстрирует, что у пациентов с МВ сохранена способность почек к осмотическому разведению мочи. Основные критерии – увеличение диуреза, снижение осмоляльности проб мочи, увеличение клиренса осмотически свободной воды. Проанализирована корреляция между значением снижения осмоляльности проб мочи ( $U_{Osm1}-U_{Osm2}$ ) после пробы с водной нагрузкой и его значением в исходном периоде ( $U_{Osm1}$ ) для каждого обследуемого (рисунок 3).

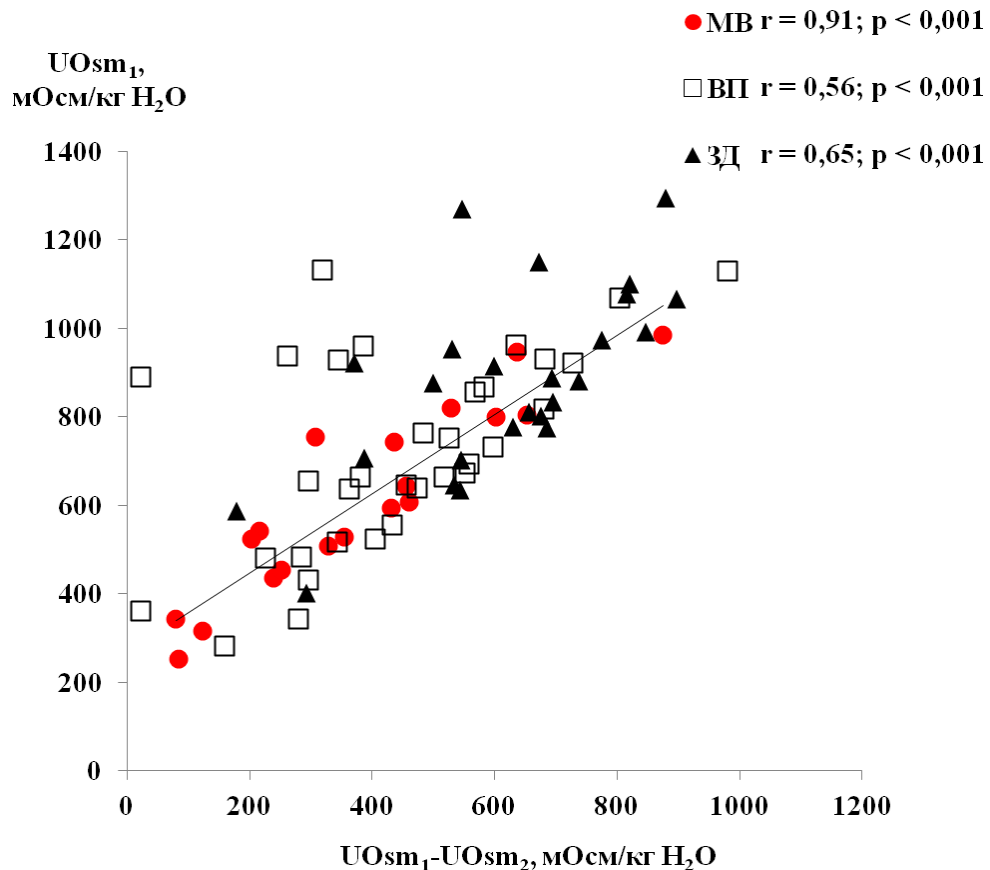


Рисунок 3 – Сравнение осмоляльности проб мочи в исходном периоде и величиной ее снижения после водной нагрузки у пациентов с МВ, ВП, контрольной группы

Во всех группах обнаружена положительная корреляция между осмоляльностью проб мочи в исходном состоянии утром (после водной депривации) и величиной ее снижения после водной нагрузки. Показана информативность модифицированного варианта теста с водной нагрузкой. Этот подход может быть использован для оценки состояния осморегулирующей функции почки в педиатрической нефрологической практике.

*Клиренс свободной от натрия воды и чувствительность системы осморегуляции почек на водную нагрузку у пациентов с муковисцидозом.* Для оценки роли почек в регуляции объёма клеток был рассчитан клиренс свободной от натрия воды [Наточин Ю.В., 2012]. Этот параметр позволяет оценить реакцию почек на поддержание осмоляльности внеклеточной жидкости,

существенной для регуляции объема клеток. При изменении объема любой клетки тела, система гомеостаза изменяет выведение почками воды, не содержащей натрия. Это приводит к нормализации концентрации натрия во внеклеточной жидкости и тем самым создает условия для восстановления клеточного объема. В исходном периоде только пациенты с МВ показали высокую корреляцию между клиренсом осмотически свободной воды и клиренсом свободной от натрия воды (рисунок 4). После питья воды при водной пробе у пациентов всех обследуемых групп зависимость между изученными клиренсами стала подобна той, которая была выявлена при МВ в исходном состоянии (рисунок 5). Таким образом, сопоставление индивидуальных значений этих показателей выявило высокую чувствительность к этому параметру у детей с МВ. Это обеспечивает клеточную волюморегуляцию.

Для оценки селективности в качестве критерия клиренса свободной от ионов натрия воды, нами был сопоставлен клиренс свободной от ионов калия и натрия воды с клиренсом осмотически свободной воды. Как в исходном периоде, так и после водной нагрузки, не было выявлено зависимости между клиренсом осмотически свободной воды и клиренсом свободной от калия воды у всех обследуемых пациентов ( $p > 0,05$ ). В случае ионов калия не было найдено закономерных изменений, следовательно, отличия касаются только клиренса воды, свободной от ионов натрия во внеклеточной жидкости (рисунок 4, 5).

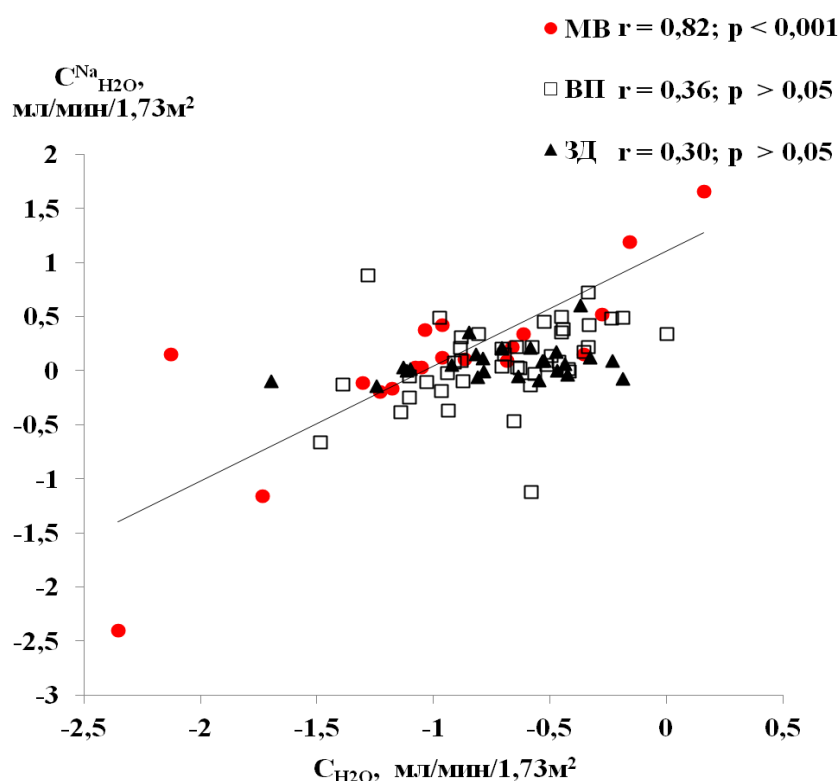


Рисунок 4 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{\text{H}_2\text{O}}$ ) и клиренсом свободной от натрия воды ( $C^{\text{Na}}_{\text{H}_2\text{O}}$ ) у обследованных детей в исходном периоде

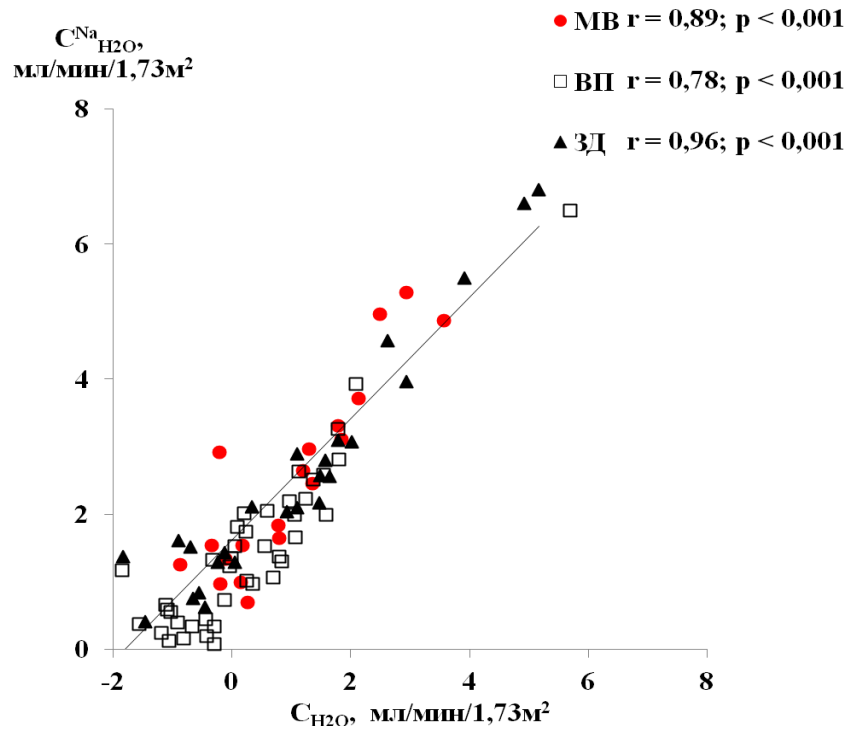


Рисунок 5 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H2O}$ ) и клиренсом свободной от натрия воды ( $C_{Na_{H2O}}$ ) у детей после водной нагрузки

*Осмотическое концентрирование и разведение мочи.* В норме питье воды приводит к гипоосмоляльности сыворотки крови, что вызывает увеличение водного диуреза и обусловлено снижением секреции вазопрессина. После водной нагрузки у 9 из 44 обследованных пациентов с ВП не происходило статистически значимого увеличения диуреза, сохранялась высокая осмоляльность проб мочи, высокая реабсорбция осмотически свободной воды, следовательно, продолжалось действие вазопрессина на почку.

Естественными стимулами для секреции вазопрессина служат обезвоживание организма, увеличение осмоляльности крови и уменьшение ее объема [Bankir L., 2017; Шейман Дж., 2019]. Имеются патологические состояния, когда растет концентрация этого гормона в крови, не связанная с перечисленными стимулами. Такое состояние известно как синдром неадекватной секреции вазопрессина (SIADH), его основные симптомы – сочетание высокой осмоляльности проб мочи (гиперстенурии), при низкой осмоляльности сыворотки крови. Учитывая отсутствие реакции почек на водную нагрузку у 9 пациентов с ВП, возникло предложение, что у них имеется SIADH. В этих случаях отмечалось тяжелое течение заболевания с выраженными симптомами интоксикации, длительной фебрильной лихорадкой, дети периодически отказывались от питья. При оценке физико-химических параметров сыворотки крови была выявлена ее низкая осмоляльность 281 [280; 284] мОсм/кг  $H_2O$ , концентрация натрия в сыворотке крови составила 137 [136; 137] ммоль/л.

Остальные 35 детей с ВП реагировали на водную нагрузку увеличением диуреза, за счет экскреции осмотически свободной воды, снижалась осмоляльность проб мочи. Для изучения выделения вазопрессина у пациентов с тяжелым течением пневмонией была измерена концентрация в моче вазопрессина и копептина (таблица 3), который освобождается вместе с вазопрессином в процессе секреции в нейрогипофизе, секретруется в эквиволярном количестве [Refardt J., 2019]. В нашей работе измерена концентрация вазопрессина в моче, а не в сыворотке крови, так как у вазопрессина очень короткий полупериод жизни, и необходимо многократное взятие крови в динамике для выявления зависимости его секреции от состояния водного баланса ребенка. Возникло предположение о возможности использования мочи в диагностических целях для оценки концентрации вазопрессина, так как вазопрессин фильтруется в клубочках и может экскретироваться почкой. Эта гипотеза была проанализирована в нашей работе.

Таблица 3 – Исследование концентрации вазопрессина и копептина в моче обследованных детей, Me [Q1; Q3]

Обследуемые	$U_{ADH}$	$U_{ADH}(BH)$	$U_{Co}$	$U_{Co}(BH)$
SIADH, n = 9	527 [376; 805] <sup>β</sup>	204 [143; 632]	1146 [716; 2480]	599 [406; 2000]
КГ, n = 10	78 [55; 159]	46 [28; 70] <sup>*β</sup>	653 [261; 792]	160 [135; 212] <sup>*</sup>

Примечания:  $U_{ADH}(BH)$ ,  $U_{Co}(BH)$  – концентрация вазопрессина и копептина в пробах мочи (пг/мл) при водной нагрузке. КГ – контрольная группа, здоровые дети. \* $p < 0,05$  к исходному периоду, до водной нагрузки.  $\beta p < 0,05$  – к контрольной группе.

Полученные результаты показали, что имеется высокая концентрация этого гормона в моче в исходном периоде у пациентов с SIADH, она статистически значимо выше, чем у здоровых детей. После водной нагрузки, концентрация вазопрессина статистически значимо не отличалась от исходного периода у пациентов с SIADH, напротив, у здоровых детей концентрация вазопрессина и копептина статистически значимо снизилась на фоне водной нагрузки. Сравнение концентрации вазопрессина и копептина в одних и тех же пробах мочи у детей с SIADH при пневмонии после водной нагрузки показало высокую корреляцию между этими показателями ( $r = 0,84$ ,  $p < 0,05$ ), что указывает на сходство секреции нонапептида в гипофизе и экстрагипофизарных локусах.

При тяжелом течении пневмонии у детей наблюдается SIADH. Причина состоит в том, что пневмония, как и ряд других форм патологии легких, в том числе и МВ, иногда приводит к эктопической секреции вазопрессина или подобного ему по характеристикам пептида, он стимулирует реабсорбцию осмотически свободной воды в почке и вызывает снижение



осмоляльности сыворотки крови. Тест с водной нагрузкой в объеме 10 мл/кг почка может быть использован для диагностики состояний, подобных SIADH, с последующей верификацией гормона.

*Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> коэффициент в сыворотке крови.* Одной из общих характеристик клеток организма служит мембранный потенциал, зависящий от соотношения концентрации катионов во внеклеточной жидкости, где доминируют ионы Na<sup>+</sup>, а K<sup>+</sup> как основного внутриклеточного катиона. В клинической практике обычно оценивается концентрации каждого из катионов в сыворотке крови по отдельности. В настоящем исследовании была измерена концентрация этих катионов и проведен расчет соотношения концентраций катионов натрия и калия в сыворотке крови у обследованных пациентов. При всех формах патологии легких, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> соотношение было выше, чем у здоровых детей (таблица 4). При анализе пациентов с ВП с тяжелым течением, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> отношение у них было резко повышенным (таблица 4) и статистически значимо отличалось от обследуемых групп.

Таблица 4 – Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> коэффициент у детей обследуемых групп, Ме [Q1; Q3]

Показатель	КГ, n 15	ПЦД, n 11	МВ, n 50	ВП, n 35	ВПтяж, n 15
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	30 [29; 31]	33 [31; 35]*β	32 [31; 34]*β	32 [30; 34]*β	36 [35; 38]*

Примечание: КГ – контрольная группа (здоровые дети), ВПтяж – внебольничная пневмония тяжелой степени; \*p < 0,05 к группе контроля, здоровые дети. βp < 0,05 к ВП тяжелой степени.

Очевидно, что Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> отношение зависит от концентрации каждого из этих катионов в пробах обследованных пациентов. Для ответа на вопрос о том, какой из катионов определяет сдвиг соотношения при исследованных формах патологии Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> коэффициент был сопоставлен с концентрацией в сыворотке крови у тех же обследованных с концентрацией Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup>. Оказалось, что определяющим фактором в сдвиге соотношения служит изменение концентрации K<sup>+</sup> (рисунок 6), а не Na<sup>+</sup> в сыворотке крови (r = 0,01, p > 0,05).

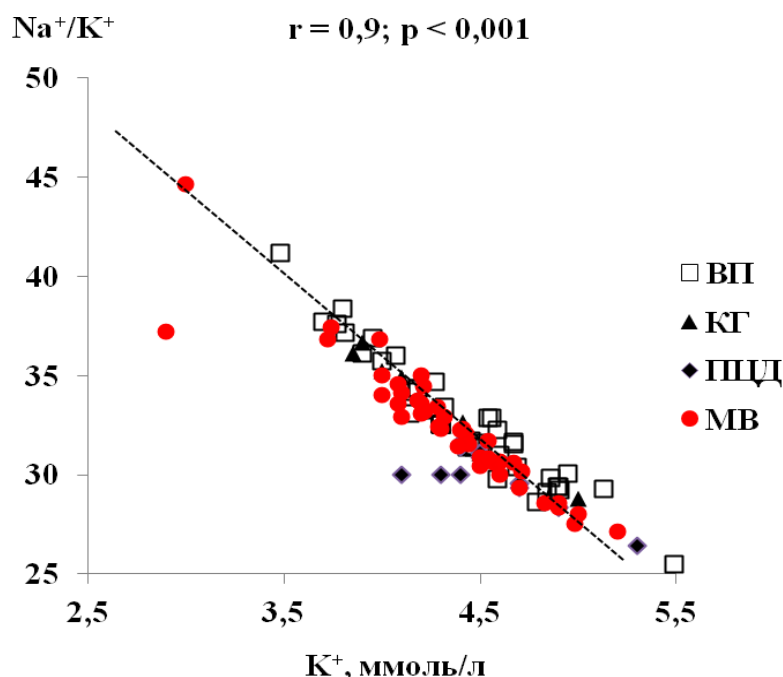


Рисунок 6 – Зависимость между соотношением  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  и концентрацией  $\text{K}^+$  в сыворотке у обследуемых детей. Примечание: КГ – контрольная группа (здоровые дети).

Результаты показывают, что у обследованных детей  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение было тем меньше, чем выше была у них концентрация ионов калия в сыворотке крови (рисунок 5). Из этого следует, что непрестанно поддерживается необходимый градиент концентрации этих катионов в сыворотке крови, возможно имеется специальный механизм стабилизации уровня  $\text{K}^+$  в сыворотке крови.

Нарушение водно-солевого гомеостаза особенно остро проявляется при сочетанной патологии, например МВ с синдромом псевдо-Барттера, когда прослеживается нарушение концентрации катионов в сыворотке крови. Нами был обследован такой пациент в возрасте 3 месяцев и 3 лет жизни. При поступлении в клинику тяжесть состояния была обусловлена острым развитием симптоматики, включающей многократную рвоту, снижение аппетита, вялость, в анализе крови выявлен метаболический алкалоз, наблюдалась гипонатриемия и гипокалиемия, высокое  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение. Для купирования острой ситуации ребенку была начата инфузионная терапия с 4% KCl, после купирования рвоты был предложен солевой раствор, содержащий хлориды калия и натрия (Humana Electrolit + 4% KCl). Несмотря на горький вкус, пациент стал жадно пить этот раствор. Такая реакция продолжалась несколько дней, пока не восстановилась концентрация одновалентных ионов в сыворотке крови (рисунок 7).

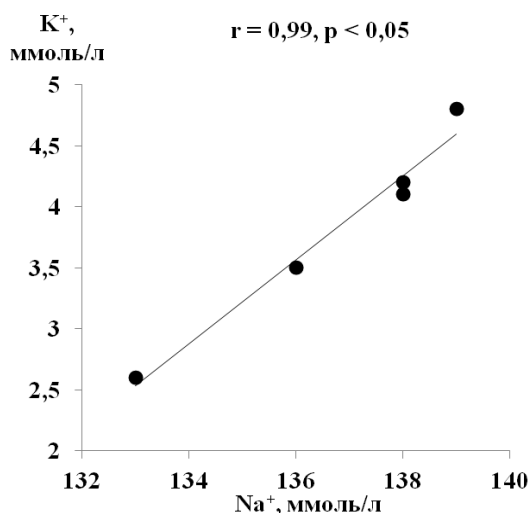


Рисунок 7 – Зависимость между концентрацией  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в сыворотке крови в динамике лечения остро развившегося синдрома псевдо-Барттера у пациента (возраст 3 года)

Важно отметить, что солевой аппетит, желание пить солевой раствор исчезли у ребенка после восстановления концентрации одновалентных ионов в сыворотке крови. Эти данные свидетельствуют о том, что у пациента с МВ острое нарушение соотношения  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  находит отражение в изменении солевого аппетита и может иметь диагностическое значение. Использование этого показателя, как симптома предвестника, позволит начать лечение на более ранних стадиях развития болезни.

Результаты проведенного исследования имеют значение для обсуждения общего вопроса оценки результатов лабораторной диагностики – необходимость анализировать величины концентрации катионов в сыворотке крови у детей изученных групп не только изолированно, но и в их отношении между собой. Концентрация ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в сыворотке крови у обследованных пациентов служит отражением влияния многих гормонов на эффекторные органы, перераспределения ионов между жидкостными фазами организма, между цитоплазмой клеток и околоклеточной жидкостью. Используемый критерий – соотношение между внеклеточным катионом  $\text{Na}^+$  и внутриклеточным катионом  $\text{K}^+$ , вероятно может рассматриваться как один из интегральных параметров состояния системы водно-солевого гомеостаза в клинической практике.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с МВ физико-химические параметры сыворотки крови (осмоляльность 291 [289; 293] мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$  и концентрация ионов  $\text{Na}$  140 [138; 141],  $\text{K}$  4.4 [4.2; 4.6],  $\text{Ca}$  2.5 [2.3; 2.6],  $\text{Mg}$  0.84 [0.75; 0.91],  $\text{Cl}$  104 [103; 106] ммоль/л) соответствуют стандартам нормы у детей.

2. Исследование с применением нагрузочных проб с введением воды и водной депривацией у пациентов с МВ свидетельствует о сохранной способности почек к осмотическому концентрированию и разведению мочи.

3. Корреляция между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) и клиренсом свободной от натрия воды ( $C_{Na_{H_2O}}$ ) при МВ демонстрирует высокую эффективность почек по регуляции осмоляльности сыворотки крови для стабилизации объема клеток.

4. Критериями оценки разработанной пробы с водной нагрузкой в объеме 10 мл/кг массы тела у детей служит реабсорбция осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ), разница между осмоляльностью мочи в контрольном периоде и величиной ее снижения после водной нагрузки ( $p < 0,001$ ).

5. Скорость клубочковой фильтрации у пациентов с МВ, рассчитанная по клиренсу креатинина, не отличается от здоровых детей той же возрастной категории при учете особенностей развития детей с МВ. Концентрация креатинина 48 [42; 55] мкмоль/л в сыворотке крови у пациентов с МВ ниже по сравнению со здоровыми детьми 78 [74; 83] мкмоль/л, в связи с меньшей мышечной массой тела.

6. У пациентов с внебольничной пневмонией с тяжелым течением выявлен синдром неадекватной секреции вазопрессина (SIADH). Разработаны новые критерии диагностики SIADH: отсутствие экскреции осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) на фоне пробы с водной нагрузкой, при сниженной осмоляльности сыворотки крови и высокой экскреции вазопрессина с мочой у пациентов.

7.  $Na^+/K^+$  отношение в сыворотке следует рассматривать, как существенный параметр состояния системы водно-солевого гомеостаза в клинической практике.  $Na^+/K^+$  отношение в сыворотке крови повышено у пациентов с орфанными заболеваниями органов дыхания и при пневмонии с тяжелым течением.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для точной оценки скорости клубочковой фильтрации по клиренсу креатинина у пациентов с МВ расчеты должны проводиться с учетом показателей физического развития (масса тела, рост).

2. Для диагностики синдрома неадекватной секреции вазопрессина у пациентов с МВ и внебольничной пневмонией с тяжелым течением рекомендовано проведение пробы с водной нагрузкой, расчет клиренса осмотически свободной воды и определением экскреции вазопрессина в пробах мочи.

3. Разработанная проба с водной нагрузкой из расчета 10 мл/кг массы тела предложена для использования в педиатрической практике для оценки осморегулирующей функции почки.

4. Рекомендован динамический контроль  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  - отношения в сыворотке крови, как симптома предвестника резкого ухудшения состояния пациентов с МВ и синдромом псевдо-Барттера. При нарастании значений данного показателя рекомендовано незамедлительно начать прием растворов через рот, содержащие хлориды калия и натрия.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Наточин, Ю.В. Исследование функционального состояния почек у детей с муковисцидозом / Ю.В. Наточин, А.А. Кузнецова, **А.В. Прокопенко (Нистарова)** // **Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского**. – 2018. – Т. 97, № 5. – С. 36–40 (**Scopus Q4**).
2. Наточин, Ю.В. Функциональная диагностика синдрома неадекватной секреции антидиуретического гормона при пневмонии у детей / Ю.В. Наточин, **А.В. Прокопенко (Нистарова)**, А.А. Кузнецова, Е.И. Шахматова // **Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского**. – 2020. – Т. 99, № 2. – С. 18–24 (**Scopus Q4**).
3. Natochin, Y.V. Osmoregulation in children with cystic fibrosis / Y.V. Natochin, A.A. Kuznetsova, **A.V. Prokopenko (Nistarova)** [et al.] // **European Journal of Pediatrics**. – 2020. – Vol. 179, № 5. – P. 835–838 (**Scopus Q1**).
4. Наточин, Ю.В. Зависимость функции почек от состояния водно-солевого обмена у детей с муковисцидозом / Ю.В. Наточин, А.А. Кузнецова, **А.В. Нистарова**, А.С. Марина // **Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского**. – 2021. – Т. 100, № 4. – С. 26–32 (**Scopus Q4**).
5. Наточин, Ю.В.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови при орфанных заболеваниях / Ю.В. Наточин, А.А. Кузнецова, **А.В. Нистарова** // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 34–41.
6. **Прокопенко (Нистарова), А.В.** Функциональные особенности почки при муковисцидозе и заболеваниях дыхательной системы у детей / А.В. Прокопенко // XXI Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье», Санкт-Петербург, 14 апреля 2018. –СПб.: РИЦ СПбГУ, 2019. – С. 347–348.
7. **Прокопенко (Нистарова), А.В.** Функциональные особенности почки при муковисцидозе у детей / А.В. Прокопенко // Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. «Медицинская весна – 2018», Москва, 27 и 28 апреля 2018. – М.: ООО «Триалог», 2018. – 296 с.
8. **Прокопенко (Нистарова), А.В.** Особенности функции почек при муковисцидозе и заболеваниях дыхательной системы у детей / А.В. Прокопенко // XXII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье», Санкт-Петербург, 20 апреля 2019. –СПб.: РИЦ СПбГУ, 2019. – С.427–428.

9. **Прокопенко (Нистарова), А.В.** Осморегулирующая функция почек при муковисцидозе и пневмонии у детей / А.В. Прокопенко, А.С. Марина // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019: Сборник тезисов LXXX научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией профессор Н.А. Гавришева. – СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2019. – С. 212–213.

10. **Прокопенко (Нистарова), А.В.** Особенности водно-солевого обмена и функции почек у детей с муковисцидозом // А.В. Прокопенко, А.С. Марина, А.А. Кузнецова // Материалы II Объединенного научного форума: VI Съезда физиологов СНГ. Под редакцией Р.И. Сепиашвили, В.А. Ткачука, А.Г. Габибова, А.И. Григорьева, В.Т. Иванова, М.А. Островского. – М.: Издательство «Перо», 2019. – с. 88.

11. **Нистарова, А.В.** Реакция осморегулирующей функции почек при синдроме неадекватной секреции антидиуретического гормона / А.В. Нистарова, Соколова Е.М. // XXIII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье», посвященная 25-летию медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, 26 сентября 2020. – СПб.: Сциентиа, 2020. – С. 195–196.

12. **Нистарова, А.В.** Исследование механизма осморегулирующей функции почек при пневмонии у детей // А.В. Нистарова, А.А. Кузнецова, А.С. Марина, Е.И. Шахматова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2020. – Т. 56, № 7. – с. 659.

13. Кузнецова, А.А. / Роль синдрома неадекватной секреции антидиуретического гормона при пневмонии у детей // А.А. Кузнецова, С.И. Петрова, Ю.В. Пешехонова, **А.В. Нистарова** [и др.] // Материалы IV Национального конгресса с международным участием «Здоровые дети — будущее страны». Детская медицина Северо-Запада. – 2020. – Т. 8 № 1. – с. 186.

14. **Нистарова, А.В.** Исследование функции почек у детей при пневмонии с синдромом неадекватной секреции АДГ / А.В. Нистарова // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2020: Сборник тезисов LXXXI научно-практической конференции с международным участием, Санкт-Петербург, ноябрь 2020 г. Под редакцией профессора Н.А. Гавришева. – СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2020. – С. 210–211.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

SIADH – синдром неадекватной секреции вазопрессина

ВП – внебольничная пневмония

МВ – муковисцидоз

ПЦД – первичная цилиарная дискинезия

СКФ – скорость клубочковой фильтрации