

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский  
университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

**Нистарова Анастасия Витальевна**

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

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

3.1.21. – Педиатрия

1.5.5. – Физиология человека и животных

Научные руководители:  
доктор медицинских наук, доцент  
Кузнецова Алла Александровна  
академик РАН, доктор биологических наук,  
профессор Наточин Юрий Викторович

Санкт-Петербург – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Оглавление .....</b>	<b>2</b>
<b>Введение .....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. Патогенетические механизмы развития дисфункции органов при муковисцидозе у детей (обзор литературы) .....</b>	<b>11</b>
1.1 История исследования клиники и патогенеза муковисцидоза .....	11
1.2 CFTR (белок-регулятор трансмембранной проводимости хлоридов).....	14
1.3 Роль CFTR в патогенезе основных клинических форм муковисцидоза ...	20
1.4 Симптомы нарушения функции почек при муковисцидозе у детей .....	29
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования.....</b>	<b>35</b>
2.1 Объекты исследования .....	35
2.2 Характеристика детей с муковисцидозом .....	35
2.3 Характеристика пациентов групп сравнения и контрольной группы .....	40
2.4 Методы функционального исследования .....	42
2.5 Методы исследования физико-химических параметров сыворотки крови и мочи .....	45
2.6 Формулы, расчеты, статистический анализ полученных данных .....	47
<b>Глава 3. Результаты исследования.....</b>	<b>50</b>
3.1 Параметры состояния водно-солевого обмена и функции почек при муковисцидозе у детей .....	50
3.2 Водно-солевой обмен и функции почек у детей контрольной и группы сравнения.....	56
3.3 Осморегулирующая функция почки у пациентов с муковисцидозом.....	59
3.4 Осморегулирующая функция почки у группы сравнения и группы контроля.....	73
3.5 Особенности ионного состава и осмоляльности сыворотки крови у детей обследуемых групп.....	82
3.6 Методы терапевтической коррекции нарушения водно-солевого	

обмена при муковисцидозе у детей .....	86
<b>Глава 4. Обсуждение результатов.....</b>	<b>92</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>101</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>	<b>103</b>
<b>Список сокращений и условных обозначений .....</b>	<b>104</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>106</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Муковисцидоз относится к орфанным заболеваниям с частотой распространения 1:9000 новорожденных в Российской Федерации [6]. Муковисцидоз – генетически детерминированное заболевание, в основе которого лежат мутации гена, кодирующего белок CFTR (трансмембранный регулятор проводимости), что нарушает функции экзокринных желез [4, 6]. Белок CFTR локализуется в апикальной мембране клеток эпителия, где функционирует как хлорный канал и обеспечивает транспорт ионов через плазматическую мембрану экзокринной клетки [136]. Дефект белка CFTR сопровождается нарушением транспорта ионов хлора, что изменяет электролитный состав секретируемых жидкостей, и они становятся чрезмерно густыми и вязкими [6].

В клинической симптоматике муковисцидоза 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 [6]. 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 [67; 117; 167].

При исследовании функции почек у детей с муковисцидозом выявлены протеинурия, гематурия, ферментурия, гиперкальциурия, гипероксалурия [10; 196]. Имеются данные об изменении скорости клубочковой фильтрации при МВ, способности почек к осмотическому концентрированию и разведению мочи [11; 167]. Остаются нерешенными вопросы состоянии резервных возможностей систем водно-солевого обмена, процессов транспорта ионов и воды в почках, их

роли в патогенезе муковисцидоза, что требует разработки и проведения функциональных нагрузочных проб.

### **Цель исследования**

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

### **Задачи исследования**

1. Изучение состояния осморегулирующей функции почек у пациентов с муковисцидозом.
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 муковисцидозом.
4. Разработка критериев диагностики синдрома неадекватной секреции вазопрессина при муковисцидозе и пневмонии у детей.
5. Сравнительное изучение соотношения и концентрации катионов в сыворотке крови при орфанных заболеваниях органов дыхания (муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия) и внебольничной пневмонии у детей.

### **Научная новизна**

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

Впервые использованы новые подходы для расчета скорости клубочковой фильтрации и оценки осморегулирующей функции почки при муковисцидозе 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 муковисцидозе 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 муковисцидозе 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 муковисцидозе у детей.

Полученные результаты расширяют представление об особенностях осморегулирующей функции почек у пациентов с муковисцидозом. 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 муковисцидозом 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 муковисцидоза 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 РФФИ №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.

# **Глава 1. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ОРГАНОВ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ДЕТЕЙ (Обзор литературы)**

## **1.1 История исследования клиники и патогенеза муковисцидоза**

Болезнь, сопровождающаяся симптомами, как и сходными с выявленными при муковисцидозе, упоминается в конце XV века, при описании ребенка с «соленым вкусом кожи», который вскоре умирает [60]. В 1606 году в Испании подобное описание имеется в книге де Фонтеча [143; 156; 189]. Вероятно, первое макроскопическое и патоморфологическое описание сходное с муковисцидозом относится к 1595 году, когда Пау (1564-1617, Амстердам, Нидерланды), профессор ботаники и анатомии Лейденского университета, представил данные вскрытия девочки, которая страдала от недоедания и фебрильной лихорадки в течение нескольких лет. У нее была увеличена поджелудочная железа, которая отличалась по консистенции и цвету от нормальной поджелудочной железы. Было высказано предположение, что причиной смерти является именно патология поджелудочной железы [68; 143; 189].

Описание подобного патоморфологического случая поражения поджелудочной железы приходится на 1673 год, когда Сегер лечил девочку трех лет по поводу длительной лихорадки, рвоты, диареи, отставания в физическом развитии [143]. Спустя несколько лет, в 1677 году Блазиусом был описан такой же случай поражения поджелудочной железы у мальчика [68; 143]. Розен фон Розенштейн в 1754 году опубликовал книгу о детских болезнях и их лечении, где в одном из разделов, были описаны несколько случаев у детей с диареей, задержкой роста, дистрофией, астенией, отеками рук и ног, увеличением объема живота. Общим признаком при патоморфологическом описании этих детей была плотная консистенция поджелудочной железы [68; 143; 189].

Первое описание меконияльного илеуса, который является распространенным проявлением муковисцидоза, относится к 1838 году, когда

Рокитанский провел патологоанатомическое описание 7-месячного плода. Была диагностирована перфорация тонкой кишки и наличие мекония в брюшной полости [143; 173]. Аналогичный случай смерти в период новорожденности был описан в 1850 году Беднаром. При патологоанатомическом описании тонкий кишечник был заполнен густым меконием [143]. А в 1905 году Ландштейнер связал кишечную непроходимость меконием у новорожденного с нарушением секреции поджелудочной железы [82; 143].

После первого патоморфологического описания, которое соответствовало заболеванию «Муковисцидоз», прошло более 300 лет, прежде чем исследователи начали связывать недостаточность поджелудочной железы и формирование хронического воспаления в легких у детей, бронхоэктазы (Фанкони, 1936 год) [99]. И уже в 1938 году патологоанатом Андерсен (Северная Каролина, США) описала заболевание и гистологические изменения поджелудочной железы у детей, назвав его «Муковисцидозом поджелудочной железы» [56]. Также Андерсен поставила диагноз муковисцидоз пациенту при жизни, основываясь на количественном определении ферментной активности поджелудочной железы, используя дуоденальное зондирование. В том же году Блэкфан и Мэй представили результаты микроскопического описания поджелудочной железы у детей, в котором отмечено расширение протоков и ацинусов, атрофию и фиброз, а также наличие высоковязкого панкреатического секрета [65; 143; 189].

В 1945 году Фарбер предположил, что заболевание затрагивает экзокринную функцию разных органов, происходит генерализованное изменение выработки секрета, для чего он предложил использовать термин «Муковисцидоз» вместо «Муковисцидоз поджелудочной железы» [101; 143]. В следующем году Андерсен провела обследование родственников пациентов с муковисцидозом, которое привело к выводу, что заболевание является генетически обусловленным с аутосомно-рецессивным типом наследования [55; 143; 189].

В августе 1949 года аномальная жара в Нью-Йорке привела к тому, что многие пациенты с муковисцидозом, в том числе и младенцы страдали от обезвоживания и протрации из-за потери солей с потом. Сант'Аньезе вместе с

Андерсен описали аномалии состава пота у этих пациентов. Это привело к разработке в 1952 году диагностического теста, который определяет количество электролитов в поте, известного как потовый тест [95; 143]. Их методика была улучшена Гибсоном и Куком, по сей день потовый тест считается «золотым стандартом» в диагностике муковисцидоза [108]. В 1952 году Бодиан описал билиарный цирроз печени у пациента с муковисцидозом [66].

В 1983 году Куинтон выявил, что столь соленый пот у пациентов с муковисцидозом обусловлен тем, что эпителиальный слой не проницаем для хлоридов, этот анион не может реабсорбироваться в кровь [151; 189].

В 1989 году был идентифицирован ген 7-й хромосомы, кодирующий структуру и функцию белка трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза [115], а также Коллинз, Цуй и Риордан обнаружили первую и наиболее частую мутацию этой хромосомы, которую они назвали F508del [143]. В последующие годы было описано более 1800 мутаций, связанных с этой формой патологии, что позволило расширить возможности диагностики заболевания [80; 114]. В 1991 году было продемонстрировано, что белок трансмембранный регулятор проводимости муковисцидоза является собственно хлорным каналом [86] и использует гидролиз аденозинтрифосфата (АТФ) для открытия канала [86; 145; 189].

В настоящее время муковисцидоз (кистозный фиброз, МВ) трактуется, как аутосомно-рецессивное, моногенное, наследственное заболевание (мутация гена в длинном плече 7-й хромосомы), с полиорганный манифестацией, характеризующееся поражением дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы, потовых желез, репродуктивной системы [4; 22; 90; 146]. Детальное описание гена, мутация которого приводит к развитию заболевания, подробная характеристика более распространенных клинических форм МВ, а также методы их диагностики и лечения привели к улучшению прогноза и выживаемости этих пациентов. Остаются нерешенными проблемы описания симптомов нарушения функции почки при МВ, так и патогенетические механизмы их развития.

## 1.2 CFTR (белок-регулятор трансмембранной проводимости хлоридов)

Трансмембранный регулятор проводимости при МВ (CFTR) принадлежит к суперсемейству АТФ-связывающих кассетных протеинов (ABC – binding cassette) [98; 136; 201]. Белок CFTR синтезируется на рибосомах шероховатого эндоплазматического ретикулума, в аппарате Гольджи происходит его гликозилирование, и готовый белок встраивается в апикальную мембрану клетки, где функционирует как хлорный канал: регулирует поступление и выход ионов хлора из клетки, обеспечивая проводимость  $\sim 10$  pS при 35–37 °C [113] или  $\sim 7$ –8 pS при 20–25 °C [140], а также секрецию бикарбоната.

CFTR функционирует как цАМФ – зависимый хлорный канал [150], он состоит из двух трансмембранных доменов (MSD1 и MSD2), каждый из которых содержит по 6 трансмембранных спиралей [76], двух нуклеотид-связывающих доменов (NBD1 и NBD2) и центрального, внутриклеточного регуляторного домена (R домен), содержащего несколько сайтов фосфорилирования [76; 105; 115; 171; 188]. Регуляторный R домен соединяет две половины, каждая из которых состоит из MSD и NBD (рисунок 1).

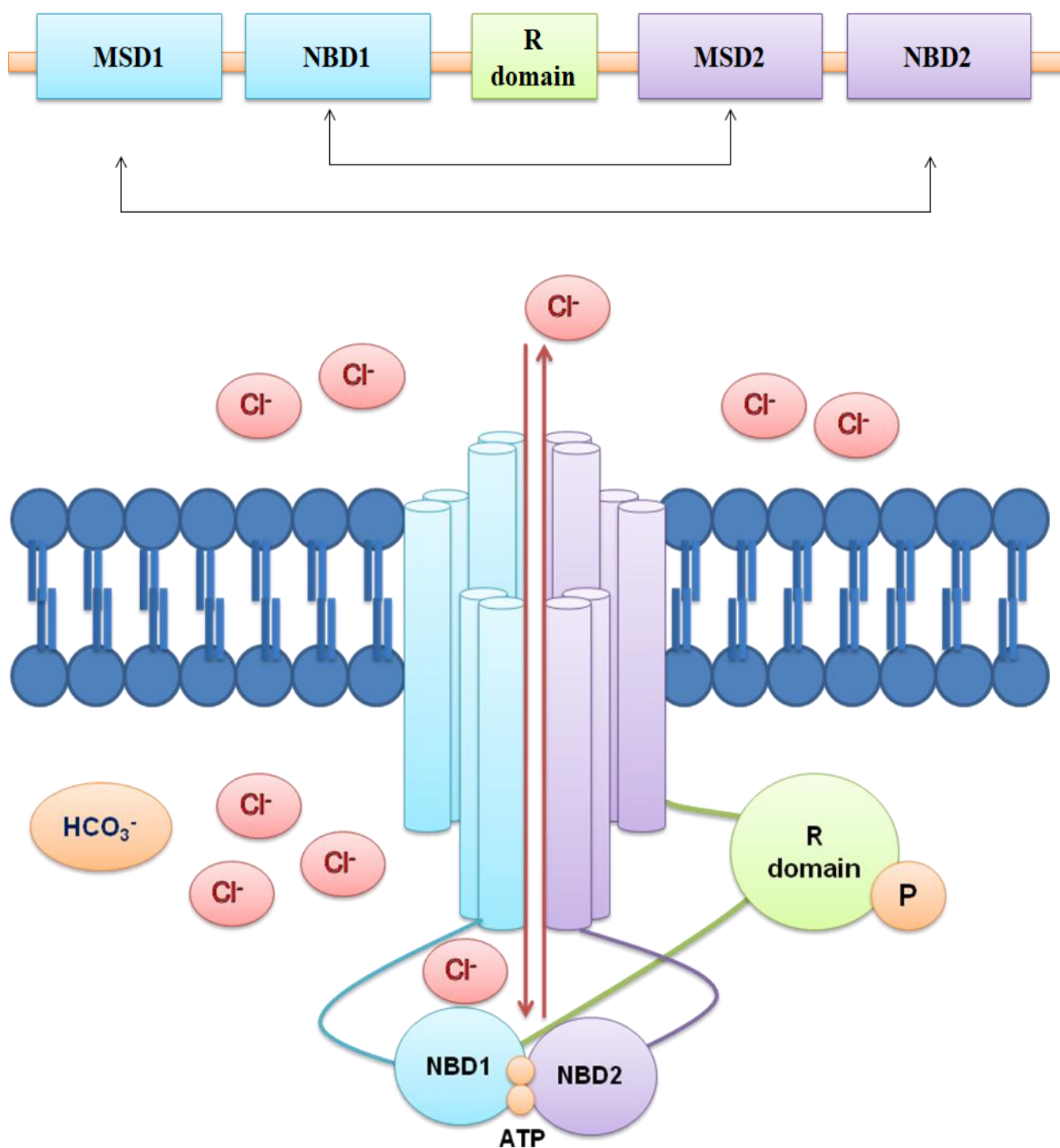


Рисунок 1 – Структура CFTR, адаптировано из [78]

Открытие канала контролируется двумя внутриклеточными доменами (NBD1 и NBD2), которые способны связывать и гидролизовать АТФ. Регуляторный R домен содержит сайты фосфорилирования (P). Активация канала требует наличия остатка фосфорной кислоты на регуляторном R домене. NBD1 и

NBD2 связывают и гидролизуют АТФ, вызывая открытие канала путем взаимодействия с трансмембранными доменами. Открытие канала будет поддерживаться до тех пор, пока гидролиз одной из молекул АТФ не приведет к нарушению интерфейса NBD1 – NBD2 и разделению NBD. Потеря сигнала позволяет закрыть канал, прекращая транспорт аниона, пока АТФ снова не свяжется с NBD (рисунок 2) [86; 106; 155].

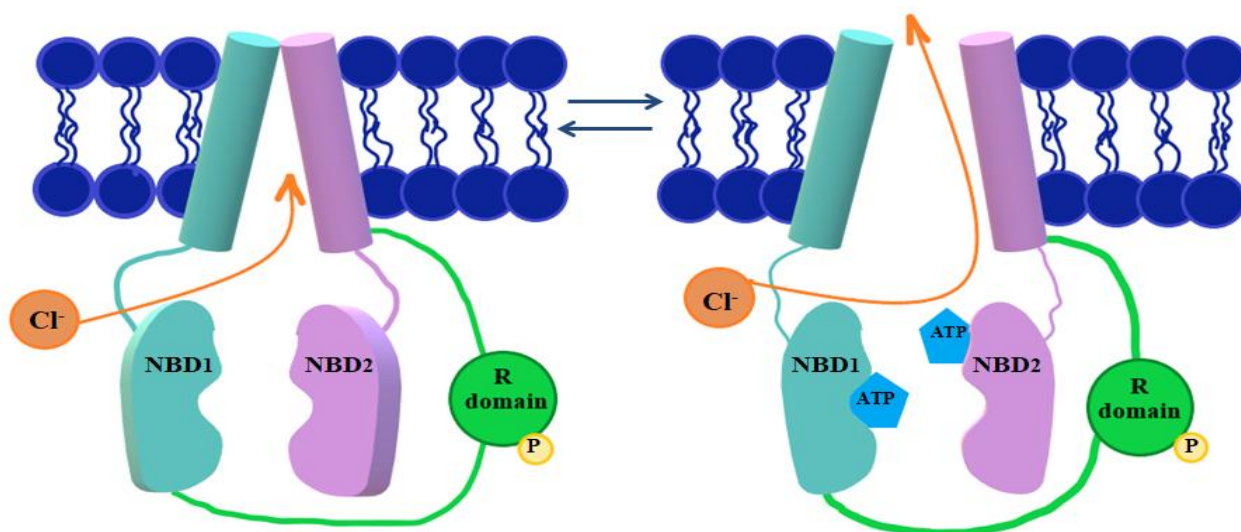


Рисунок 2 – Структура белка CFTR в закрытом и открытом состоянии, адаптировано из [155; 189]

Помимо транспорта хлоридов, CFTR играет важную роль во внутриклеточном везикулярном окислении [85], процессинге и транспорте белков [139], секреции АТФ [91], и контроле эпителиального натриевого канала (ENaC), секреторного калиевого канала в канальце почки (ROMK-2) и хлорного канала (ORCC – outwardly rectified chloride channel)) [71; 72; 159; 180].

Ионы натрия абсорбируются клетками эпителия дыхательных путей при МВ. Это было показано Статтсом и соавторами [71], дисфункция CFTR ответственна за эту базальную амилорид-чувствительную избыточную абсорбцию  $\text{Na}^+$  из-за дефекта в регуляции цАМФ зависимых амилорид-чувствительных потоков ENaC в эпителий дыхательных путей при МВ. Описано несколько возможных механизмов взаимодействия CFTR и ENaC. CFTR играет роль в экспорте внутриклеточного АТФ [72]. Аденозин-5'-трифосфат может ингибировать  $\text{Na}^+$  каналы апикальной мембраны либо посредством активации



фосфолипазы C и протеинкиназы C, связанных с пуринергическими рецепторами  $P_{2y2}$ , либо после метаболизма АТФ с помощью эктонуклеотидаз в аденозин и последующего ингибирования аденилилциклазы, связанной с аденозиновым рецептором  $A_1$  [141]. Теоретически CFTR может осуществлять транспорт еще не идентифицированных субстратов, влияющих на  $Na^+$  каналы. CFTR взаимодействует напрямую с одной или несколькими субъединицами ENaC. CFTR и ENaC взаимодействуют через элементы цитоскелета, ассоциированного с мембраной, это косвенное взаимодействие каким-то образом участвует в способности CFTR вмешиваться в регуляцию ENaC с помощью цАМФ-зависимой протеинкиназы. Хотя детально механизм полностью не установлен, показано, что на CFTR и ENaC влияет взаимодействие с компонентами цитоскелета, а именно с актином [158].

Ген CFTR, идентифицированный в области q21-31 хромосомы 7, кодирует белок массой 165 кДа, содержащий 1480 аминокислот. Известно, что менее 150 из описанных в настоящее время 2000 мутаций вызывают заболевание МВ. Мутации гена приводят к нарушению синтеза, структуры и тем самым функции белка CFTR, который локализуется в апикальной мембране эпителиальных клеток, выстилающих выводные протоки потовых и слюнных желез, в бронхах, поджелудочной железе, кишечнике, урогенитальном тракте. В этих мутациях, делеция фенилаланина в положении 508 является наиболее распространенной, и 95% пациентов с МВ обладают по крайней мере одним аллелем с этой мутацией [54].

В зависимости от механизма, нарушающего функцию белка CFTR, мутации гена CFTR подразделяют на шесть классов [22; 74] (рисунок 3).

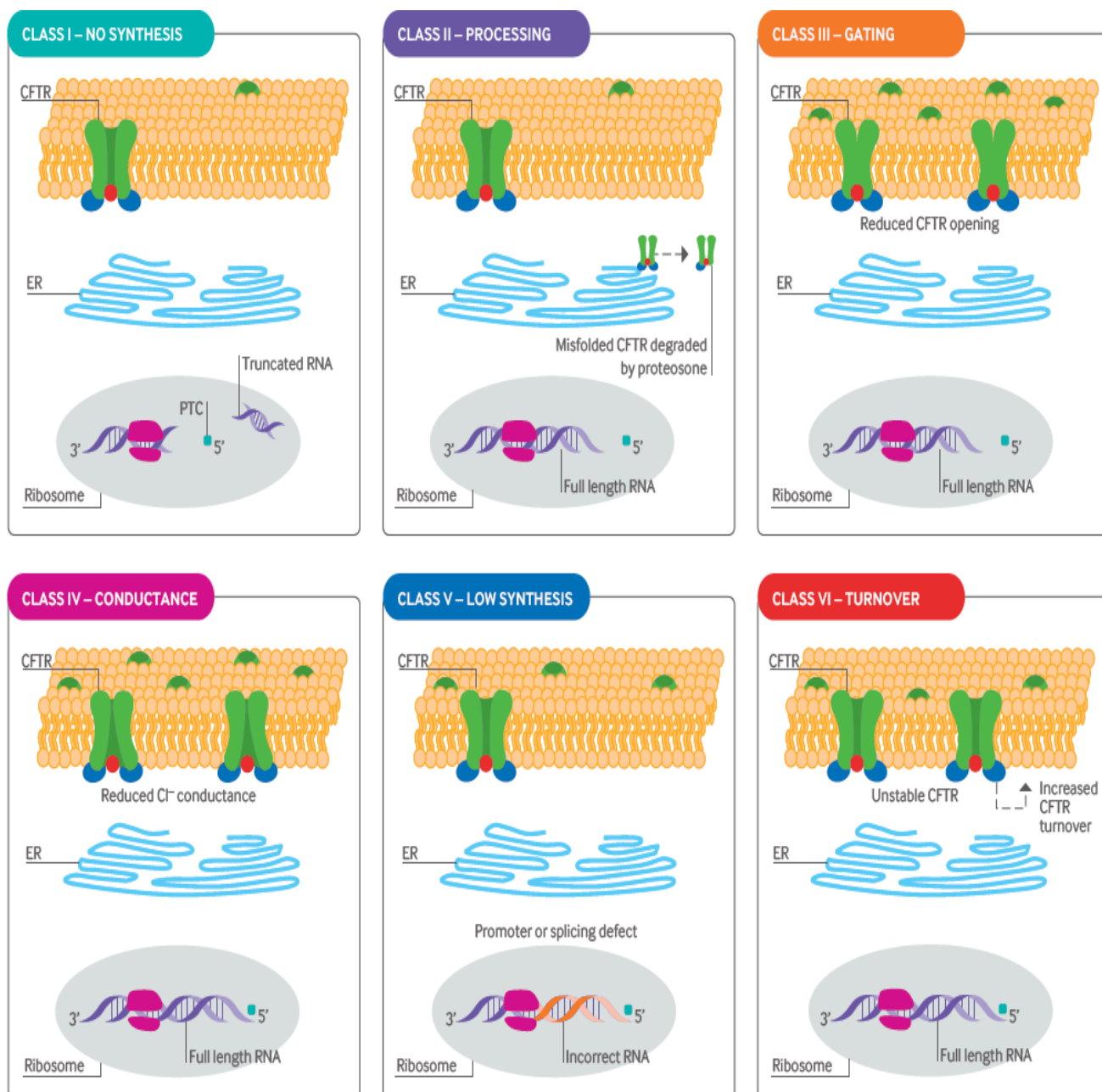


Рисунок 3 – Классы мутаций CFTR, адаптировано из [155]

Генетические варианты I класса приводят к нарушениям транскрипции и трансляции. В него входят генетические варианты с наиболее выраженными фенотипическими проявлениями в связи с тем, что они приводят либо к нарушению синтеза стабильного протеина, либо к продукции аномального укороченного протеина вследствие образования стоп-кодона. Мутации II класса блокируют созревание белка CFTR, а мутации III класса вызывают нарушение открытия хлорного канала. Генетические варианты этого класса расположены в нуклеотид-связанных доменах (NBD) и регуляторном R домене. Генетические

варианты этих трех классов, при которых белок CFTR в апикальной мембране практически полностью отсутствует, или полностью нарушена его функция, относятся к категории «тяжелые», и определяют характерную клиническую картину МВ, а также приводят к значительному ухудшению течения экзокринной функции поджелудочной железы.

Мутации IV класса в основном миссенс-мутации, располагающиеся в трансмембранных доменах (MSD). Эти мутации вызывают изменение проводимости хлорного канала за счет уменьшения времени открытия ионного канала и, как следствие, уменьшения потока ионов [22; 198]. Для пациентов с данными мутациями характерно достаточно легкое течение заболевания без нарушения функции легких и поджелудочной железы. Мутации V класса приводят к уменьшению количества функционального белка, а мутации VI класса характеризуются уменьшением времени пребывания белка на поверхности клетки. Генетические варианты классов IV-VI, при которых сохраняется остаточная функция хлорного канала, относятся к категории «мягкие», чаще всего при таких мутациях клиническая картина сопровождается минимальной дисфункцией поджелудочной железы.

Что касается фенотипа поджелудочной железы, то «мягкие» генетические варианты преобладают над «тяжелыми» [133; 135; 202]. Пациенты с «мягкими» генетическими вариантами имеют лучший статус питания, но более высокий риск развития панкреатита, чем пациенты с двумя «тяжелыми» генетическими вариантами [74].

Несколько исследований показали, что уровень смертности у пациентов с двумя «тяжелыми» генетическими вариантами в их геноме значительно выше, чем у пациентов с хотя бы одним «мягким» генетическим вариантом. Это частично связано с большим нарушением функции легких и нутритивного статуса, тяжелой недостаточностью функции поджелудочной железы и более ранней колонизацией синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) у пациентов с двумя «тяжелыми» генетическими вариантами [22].

### 1.3 Роль CFTR в патогенезе основных клинических форм муковисцидоза

#### *Респираторный тракт*

Согласно регистру Российской Федерации от 2018 года включены данные о 3142 больных с МВ, в их числе 3091 живых и 51 умерших. Причиной смерти большинства больных является бронхолегочная патология – 44 пациента [30]. Это связано, прежде всего, с тем, что в воздухоносных путях сконцентрирована наибольшая экспрессия CFTR.

Учитывая, что CFTR экспрессируется на ранней стадии развития [97], поражение легких может носить частично врожденный характер. Имеются данные, что у новорожденных присутствует сужение проксимальных отделов респираторного тракта [127]. У детей раннего возраста с МВ (средний возраст 16 месяцев) значительно чаще встречается трахеомалация, которая приводит к обструкции дыхательных путей и более раннему присоединению хронической бактериальной инфекции [192].

Эпителий воздухоносных путей представлен однослойным многорядным призматическим (в самых дистальных отделах он кубический), реснитчатым. Кроме реснитчатых (цилиарных) клеток, в эпителии имеются высокодифференцированные бокаловидные и щеточные клетки, покрытые микроворсинками, а также вставочные и базальные. Реснитчатые клетки являются главным звеном мукоцилиарной системы (МЦС), обеспечивающими ее функцию, и бокаловидные клетки наряду с подслизистыми железами вносят основной вклад в образование слизи. Роль МЦС состоит в очищении органов дыхания от ингалированных патогенных веществ, продуктов метаболизма и служит для поддержания нормальной проходимости дыхательных путей, оптимального уровня газового состава крови, обмена кислорода и углекислого газа. Для поддержания эффективного мукоцилиарного клиренса, гидратация слизистого слоя жестко регулируется транспортом ионов и воды через поверхностный эпителий [8].

В эпителиальных клетках дыхательных путей экспрессируется как ENaC, так и CFTR, следовательно, они способны абсорбировать  $\text{Na}^+$ , а также секретировать  $\text{Cl}^-$ . Муцины – это гликопротеины, которые отвечают за вязкоупругие свойства слизи, что имеет решающее значение для эффективного мукоцилиарного клиренса. Муцины подразделяются на мембранно-связанные и секретируемые. Мембранно-связанные муцины, присутствующие на ресничках эпителиальных клеток дыхательных путей, образуют ячеистую сеть, обеспечивающую постоянное содержание воды между ресничками. Секретируемые муцины (в первую очередь MUC5AC, MUC5B и MUC2) удерживают воду и образуют резервуар, из которого жидкость может поступать в перилиарное пространство (внутренний слой, золь) для обеспечения его постоянной гидратации. Секретируя  $\text{Cl}^-$  и регулируя всасывания ионов натрия, CFTR играет ключевую роль в обеспечении жидкости, необходимой для баланса гидратации этих компартментов. Мутация гена CFTR способствует потере секреции хлоридов, что приводит к изменениям осмотического давления и электронейтральности, что, вероятно, вызывает чрезмерное поглощение ионов натрия и воды. Это изменение еще больше усугубляется повышенной активностью ENaC в дыхательных путях при МВ [119].

Эпителиальные клетки дыхательных путей, а также серозные клетки подслизистых желез, секретируют  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ , в ответ на действие агентов, увеличивающих внутриклеточный цАМФ (аденозин и норадреналин) и/или  $\text{Ca}^{2+}$  (ацетилхолин, гистамин или АТФ) [175]. CFTR необходим для нормальной секреции бикарбоната эпителиальными клетками бронхов [64; 182]. Снижение секреции бикарбоната подкисляет жидкость апикальной поверхности (рН жидкости на поверхности дыхательных путей при МВ сдвинута в кислую сторону, чем у здоровых людей [110]), что приводит к нарушению антибактериальных свойств. Недостаточная секреция бикарбоната ухудшает высвобождение и распространение муцинов из бокаловидных клеток и подслизистых желез [63]. Более того, все больше данных свидетельствует о том, что CFTR-зависимый бикарбонат важен для солюбилизации гранул муцина, а

также плотности слизи в дыхательных путях [63]. Секретируемые муцины упакованы в виде высококонденсированных гранул, содержащих большое количество  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{H}^+$ . Поскольку гранулы высвобождаются из крипт малых дыхательных путей (дистальные отделы бронхиального дерева), CFTR выделяет бикарбонат, который вытесняет  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{H}^+$  из муцинов, позволяет им разворачиваться и дезагрегироваться [63]. Отсутствие бикарбоната во время секреции муцина приводит к образованию толстого плотного слоя муцинов, который прочно прилипает к апикальной поверхности эпителиальных клеток [63]. Муцинозный слой, не содержащий бикарбонатов, улавливает частицы и настолько плотно удерживает их, что не может быть аспирирован с апикальной поверхности клеток [63; 119].

Конечный результат заключается в том, что дыхательные пути пациентов с МВ закупорены плотной слизью и заселены бактериями, например, синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), которая вызывает тяжелую воспалительную реакцию. Это приводит к прогрессирующему и необратимому структурному повреждению легких и снижению их функции (рисунок 4) [130]. Усиление воспалительной реакции при МВ приводит к аномально высокому соотношению арахидоновой кислоты к докозагексаеновой кислоте в клеточных мембранах [59; 119]. В последующем развивается гипоксия, которая запускает каскад сигнальных событий, которые начинаются со стабилизации индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF-1), фактора транскрипции, влияющего на ангиогенез, воспаление и фиброз [109].



Рисунок 4 – Патогенез в бронхолегочной системе у пациентов с МВ

Таким образом, показана связь между дефектом CFTR и интенсивным воспалением дыхательных путей. Отсутствие функционального CFTR приводит к потере секреции хлоридов и бикарбонатов на поверхности дыхательных путей. Вязкий, богатый муцином материал прикрепляется к поверхности дыхательных путей, что приводит к обтурации слизию терминальных отделов легких и снижению очищения от бактерий. Низкий pH препятствует уничтожению бактерий на поверхности дыхательных путей. Заболевание легких при МВ характеризуется хроническим, не разрешающимся воспалением, вызванным постоянным привлечением иммунных клеток в дыхательные пути [129]. Дефицит CFTR также связан с низким соотношением докозагексаеновой кислоты к

арахидоновой кислоте в клеточных мембранах и способствует TLR4-зависимому воспалению. S100, A8, A9 и A12 представляют собой воспалительные белки нейтрофилов, их количество увеличивается в мокроте пациентов с МВ. Активация NF-κB-зависимой транскрипции и дефектная передача сигналов Nrf2 в CFTR-дефицитных клетках в совокупности усиливают хемотаксис нейтрофилов, уменьшают синтез глутатиона и увеличивают транскрипцию муцина и экзоцитоз. Изобилие и активация нейтрофилов увеличивает высвобождение протеаз, оксидантов и других токсичных продуктов, которые могут ингибировать CFTR, разрушать ткани дыхательных путей и вызывать бронхоэктазы [119].

CFTR играет важную роль в функции дыхательных путей. Он участвует в секреции анионов, что имеет решающее значение для гидратации дыхательных путей, pH слизи [175].

### *Желудочно-кишечный тракт*

В 1958 году Крозайер из детской больницы в Торонто назначил своим пациентам с МВ диету, насыщенную жирами вместе с высокими дозами пероральных добавок ферментов поджелудочной железы, которые улучшили их пищевой статус, рост и увеличили выживаемость [93]. Исходя из сказанного, определяющими для продолжительности жизни больного пациента с МВ также является характер и степень поражения пищеварительного тракта, в большей степени поджелудочной железы и печени [22].

Хроническую панкреатическую недостаточность имеют 85-90% больных МВ [5]. Экзокринная часть поджелудочной железы состоит в основном из двух типов эпителиальных клеток: ацинарные клетки, составляющие около 90% объема железы, и протоковые клетки, составляющие 10%, с небольшой долей клеток, секретирующих слизь и выполняющих эндокринную функцию. CFTR высоко экспрессируется в апикальной мембране клеток протоков, но не присутствует в ацинарных клетках [126], и необходим для секреции электролитов и жидкости из железы. Дефект в CFTR-опосредованного транспорта  $\text{HCO}_3^-$  приводит к тяжелой панкреатической дисфункции. Следствием нарушения  $\text{HCO}_3^-$



секреции является кислый сок поджелудочной железы (менее 6,5), что увеличивает вязкость слизи, снижает растворимость секретируемых пищеварительных ферментов [152].

В норме в ацинусе вырабатывается жидкий секрет, богатый ферментами и белками. Продвигаясь по выводному протоку, секрет становится более жидким за счет поступающих в него анионов, растворенных в жидкости. У больных МВ из-за нарушенного анионного транспорта в белковый субстрат не поступает необходимого количества жидкости, он остается вязким, и скорость его продвижения замедляется. Белки преципитируются на стенках мелких выводных протоков, в результате этого панкреатические протоки закупориваются, поджелудочная железа повреждается и атрофируется. Затрудняется секреция пищеварительных ферментов в двенадцатиперстную кишку, что приводит к нарушению всасывания жиров, жирорастворимых витаминов [5]. Отсутствие CFTR-зависимой секреции жидкости приводит к почти полному разрушению железы при рождении примерно у 85% людей с МВ [175]. Поражение поджелудочной железы выявляется уже в антенатальном периоде. У новорожденных междольковые протоки расширены и заполнены слизью: объем системы протоков у здоровых новорожденных составляет 0,5-4% от объема поджелудочной железы, у больных МВ – более 4%. К концу 1-го года жизни экзокринные элементы ткани поджелудочной железы прогрессивно замещаются соединительной тканью и жировыми отложениями [104].

У 15-20% новорожденных заболевание манифестирует развитием меконияльного илеуса (МИ) в результате внутриутробной панкреатической недостаточности. Он может присутствовать в двух формах: простой и сложный МИ. При простом МИ вязкий меконий закупоривает терминальную часть подвздошной кишки и тонкий кишечник проксимальнее непроходимости, а затем кишка расширяется дополнительным количеством мекония, газа и жидкости. При сложном МИ расширенные меконием сегменты подвздошной кишки могут уступить место осложнениям, таким как пренатальный заворот, ишемический некроз, атрезия или перфорация кишечника, и попадание мекония в брюшину.

Меконий также может частично инкапсулироваться, что приводит к гигантскому, кистозному, мекониевому перитониту [170].

В тонкой кишке CFTR отвечает за экскрецию  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ . Именно  $\text{HCO}_3^-$  играет неотъемлемую роль в хелатировании  $\text{Ca}^{2+}$ , связанного с плотным матриксом муцинов в просвете кишечника, с образованием нормальной, хорошо гидратированной слизи [69]. Нарушение функции белка CFTR, и как следствие нарушение  $\text{HCO}_3^-$  секреции, приводит к снижению pH просвета. Это создает кислую и дегидратированную среду, в которой плотный матрикс муцинов не нарушается, что приводит к образованию густой обезвоженной слизи [69]. Аномально кислая среда просвета также способствует присутствию высокой концентрации альбумина в стуле и содержанию минералов, углеводов, связанных с белками. Они соединяются с густой слизью с образованием вязкого мекония, который в конечном итоге приводит к обструкции терминального отдела подвздошной кишки [69]. Этот процесс может привести к двум описанным выше результатам: простому или сложному МИ [177]. МИ чаще всего связан с генетическими вариантами 1-3 класса мутаций CFTR (F508del, G542X, W1282X, R553X и G551D и др.). В дальнейшем, пациенты с МИ склонны к формированию цирроза печени, аллергического бронхолегочного аспергиллеза, электролитных нарушений [7; 170]. Согласно регистру 2018 года Российской Федерации по МВ – МИ диагностирован при рождении у 266 наблюдаемых больных, 231 из них потребовалось хирургическое пособие [30].

Хотя симптомы фиброза печени различной степени можно наблюдать практически у всех больных МВ, прогрессирование заболевания осложняется развитием мультилобулярного цирроза печени у 5-10% больных уже к 10-летнему возрасту с частым осложнением – синдром портальной гипертензии [7; 120]. Цирроз печени обычно возникает у пациентов с «тяжелыми» типами мутаций (класс I-III) [124].

CFTR расположен в апикальной поверхности холангиоцитов, но не обнаруживается в гепатоцитах [125]. Из-за дисфункции белка CFTR желчь становится вязкой и малорастворимой. Обструкция желчных протоков вызывает

ряд негативных реакций (задержка токсичных для печени желчных кислот, продукция медиаторов воспаления – цитокинов и свободных радикалов, повреждение гепатоцитов, фиброз). Клинически поражение печени и желчевыводящих путей можно выявить у новорожденных с затяжной холестатической желтухой, которая встречается у 50% новорожденных с МИ. Варикозное расширение вен пищевода – опасное для жизни пациента осложнение цирроза печени, которое со временем может привести к частым кровотечениям у пациентов с МВ [5].

### *Потовые железы*

Эккринная потовая железа человека способствует поддержанию температуры тела за счет выделения пота в ответ на повышение температуры окружающей среды, физические упражнения или эмоциональные ситуации. Человек может выделять до 4 литра пота за час для терморегуляции [77]. Однако все чаще признается, что пот играет ряд других важных ролей, включая производство и секрецию лактоферрина и дермицидина, антимикробного белка [53; 70], а также выполняет барьерную функцию. Потовые железы также содержат стволовые клетки, важные для обновления кожи после ран и ожогов [89].

Клетки протоков желез экспрессируют высокие уровни CFTR, и в отличие от всех других эпителиальных тканей, пораженных при МВ, CFTR присутствует как в апикальной, так и в базолатеральной мембранах [153; 154]. Подобно дыхательным путям, ENaC также экспрессируется в апикальной мембране. В потоотделении и  $\text{Na}^+$ , и  $\text{Cl}^-$  перемещаются трансцеллюлярно, оба канала работая синхронно, регулируют чистое трансэпителиальное всасывание NaCl. Показано, что активность ENaC зависит от функционального взаимодействия с фосфорилированным  $\text{Cl}^-$  транспортирующим CFTR [153], подчеркивая разные регуляторные взаимодействия между двумя каналами. В клетках протоков, как и в дыхательных путях, вход  $\text{Na}^+$  происходит через ENaC по большому электрохимическому градиенту. Из клетки  $\text{Na}^+$  транспортируется через базолатеральную мембрану в интерстициальную жидкость с помощью  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -

насоса, создавая трансэпителиальный электрический градиент, способствующий всасыванию  $\text{Cl}^-$ .

Отсутствие функционального CFTR приводит к неспособности протоков потовых желез абсорбировать  $\text{Cl}^-$ , и как следствие предотвращается транспорт  $\text{Na}^+$ , следовательно, всасывание соли заметно снижается, а уровень  $\text{NaCl}$  в поту повышается, вызывая аномально «солёный» пот, что является одним из патогномоничных признаков заболевания. Хотя в нормальных условиях это не служит серьёзной клинической проблемой, но в жарких и влажных условиях, а также при физической нагрузке люди с МВ могут терять чрезмерное количество соли и жидкости, вызывая обезвоживание и тепловую проstration (синдром псевдо-Барттера). Этот синдром дебютирует в основном на первом году жизни у пациентов с МВ и является опасным для жизни состоянием. Клиническими симптомами настоящего синдрома являются потеря веса, вялость, слабость, тошнота, рвота, обильные срыгивания, снижение аппетита, особенно в условиях повышенного потоотделения (лихорадка, физическая нагрузка, недостаточное поступление жидкости преимущественно в жаркую погоду, рвота, диарея, недостаточное поступление солей с пищей), лабораторными признаками – потеря электролитов (гипокалиемия, гипонатриемия, гипохлоремия), метаболический алкалоз [6].

Описана роль CFTR в транспорте электролитов и жидкости в ряде эпителиальных тканей, включая дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, секреторные железы. Он достигает этого не только за счёт того, что обеспечивает транспорт анионов (функция ионного канала), но также за счёт разнообразной и сложной регуляции других, не связанных с CFTR каналов, и переносчиков анионов (регулирующая функция транспортера), которые также участвуют в транспорте соли и жидкостей. Благодаря этой активности CFTR играет ключевую роль в поддержании целостности эпителия и защите организма в целом.

#### 1.4 Симптомы нарушения функции почек при муковисцидозе у детей

В руководствах по педиатрии [15; 26; 27; 42; 103], клинических рекомендациях союза педиатров России [6] при описании симптоматики МВ речь идет преимущественно о патологии органов дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта [4; 16; 22].

CFTR высоко экспрессируется на ранних стадиях развития почек. Его присутствие в цитоплазме проксимальных канальцев впервые обнаруживается на 16 неделе беременности [87]. Несколько исследований показывают, что мРНК CFTR экспрессируется во всех сегментах нефрона [67; 115]. CFTR был обнаружен в проксимальном канальце, тонкой части петли Генле, дистальном канальце и в собирательных трубках кортикального и внутреннего мозгового вещества [67; 87; 117]. Если CFTR обильно экспрессируется в почках [57; 67; 137; 183; 186; 191], нарушается ли функция почек, связанная с дефектом гена CFTR, каковы будут основные симптомы поражения функции почек?

Неоднократно проводились исследования, касающиеся клинических проявлений состояния почек при МВ. Изменения в почках могут быть связаны как с первичными дефектами, вызванными мутациями CFTR, так и с наличием хронической бактериальной инфекции, проведением антибактериальной терапии, зачастую обладающей нефротоксическим эффектом [67; 115; 117; 137; 186; 187].

По данным литературы у детей с МВ наблюдается тенденция к нарушению оксалатно-кальциевого и фосфорного обменов, в мочевом осадке при МВ выявляется гиперкальциурия, гипероксалурия, гипоцитратурия, гиперурикозурия, фосфатурия [4; 9; 10; 23; 37; 40; 41; 131; 161; 194; 195; 196]. Также в мочевом осадке пациентов с МВ обнаруживается микрогематурия, протеинурия, микроальбуминурия, лейкоцитурия [10; 166; 167].

Гипероксалурия прежде всего связана с «тяжелым» генотипом, недостаточностью функции поджелудочной железы и заболеванием печени при МВ [167]. Важно отметить, что повторное применение антибиотиков приводит к разрушению кишечных бактерий, разлагающих оксалаты, таких как *Oxalobacter*

*formigenes* [107]. В нормальных условиях эта грамотрицательная палочка поглощает оксалаты для выработки АТФ, тем самым способствуя ограничению потребления оксалатов. Недостаток кишечной бактерии *Oxalobacter formigenes* может представлять дополнительный риск абсорбтивной гипероксалурии у пациентов с МВ. Таким образом, гипероксалурию следует рассматривать как важный фактор риска нефролитиаза с ранним началом и высокой частотой у детей при МВ [167].

Протеинурия, как один из симптомов нарушения функции почек у пациентов с МВ встречается в старшем возрасте, чаще у взрослых. При биопсии почки пациентов с протеинурией выявлен амилоидоз АА [79; 81], диабетическая гломерулопатия, фокальный сегментарный гломерулосклероз, гломерулонефрит с минимальными изменениями, постинфекционный гломерулонефрит, IgA-нефропатия, связанная с пурпурой Шенлейна-Геноха, мембранозной нефропатией и хронической интерстициальной нефропатией [169]. Амилоидоз достаточно редкое осложнение заболевания МВ и является проявлением системного хронического воспаления при МВ, первичным симптом которого, может быть протеинурия [31].

При описании клинического случая пациента с МВ (генотип ΔF508 / ΔF508) и с нефротическим синдромом, биопсия почек выявила узловой гломерулосклероз при отсутствии сахарного диабета и амилоидоза у данного пациента [45]. В литературе описывается несколько клинических случаев протеинурии у детей, достигающих уровня нефротического синдрома. В одном из них при биопсии почек выявлены минимальные изменения, оценка интерстиция показало рассеянное смешанное мононуклеарное воспаление с редкими эозинофилами и нейтрофилами без каких-либо признаков фиброза [50]. В других случаях при описании трех подростков с МВ, при гистологическом исследовании выявлена IgA-нефропатия у одного пациента и амилоидоз у двух других обследуемых [181]. Описывается возможная связь между IgA-нефропатией и МВ [116]. Иногда при выраженной почечной недостаточности у детей, гистологическое исследование не выявляет никаких изменений [162]. В любом случае следует выяснить, имеется ли

амилоидоз почек у пациентов с МВ и протеинурией, и подтвердить его с помощью биопсии почек [160].

Нарушение функции почек чаще встречается у пациентов с тяжелым течением МВ, наличием хронической бронхолегочной патологии и хронической панкреатической недостаточности, при этом ведущими заболеваниями выступают – тубулоинтерстициальный нефрит, дисметаболическая нефропатия [11; 41]. Также описывается нейрогенная дисфункция мочевого пузыря, первичный энурез, аномалия развития органов мочевой системы, пиелозктазия, инфекция органов мочевой системы [40; 41].

Для оценки функции почек рядом авторов использовались функциональные пробы [25; 199]. При оценке скорости клубочковой фильтрации, как одной из характеристик состояния почек, выявлено увеличение клиренса эндогенного креатинина [9; 10; 36; 58]. В сочетании с повышением клиренса креатинина у пациентов с МВ отмечалось увеличение клиренса натрия, калия, хлора, кальция, мочевины при сравнении со здоровыми детьми [36], также обнаружена низкая концентрация калия, натрия, хлора в пробах мочи [34; 35]. В исследовании [167] скорость клубочковой фильтрации оценивали с использованием формулы Шварца. Полученные результаты показали, что временное снижение скорости клубочковой фильтрации (менее 90 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) наблюдалось у 19% пациентов, в основном в возрасте до 3 лет, далее медиана скорости клубочковой фильтрации составила 173 [150; 197] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, а также не было выявлено статистически значимого различия в скорости клубочковой фильтрации между детьми с разными генетическими вариантами. При оценке скорости клубочковой фильтрации по клиренсу изотопа <sup>99m</sup>Tc-ДТПА (технеция-99m-диэтилентриаминпентауксусной кислоты) у пациентов в возрасте от 2 до 18 лет, среднее значение показателей скорости клубочковой фильтрации составило 140±24 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, что было значительно выше по сравнению с здоровыми детьми [166].

Изменение скорости клубочковой фильтрации могут быть связаны с возрастом пациента, применением массивной, антибактериальной и

противовоспалительной терапии, с хроническим воспалением, преимущественно бронхолегочной системы [96]. Длительные курсы антибактериальной терапии приводят к снижению скорости клубочковой фильтрации. В исследовании [144] до 42% пациентов имеют скорость клубочковой фильтрации ниже нормального диапазона. Снижение скорости клубочковой фильтрации коррелирует с использованием препаратов из группы аминогликозидов. После трансплантации легких у многих пациентов снижается скорость клубочковой фильтрации по сравнению с пациентами без трансплантации ( $p < 0,001$ ), вероятнее, это связано с применением цитостатической терапии, таких как циклоспорин и другие ингибиторы кальциневрина [168].

Имеются данные о изменении реабсорбции натрия в почке у пациентов с МВ [84; 112; 164]. Отмечено повышение реабсорбции натрия в проксимальных канальцах почек [62; 163]. В исследование [165] при оценке экскреции ионов, минутная экскреция ионов натрия, калия, кальция у пациентов с МВ не отличалась в контрольном периоде и после введения солевого раствора. После введения физиологического раствора прирост скорости клубочковой фильтрации у пациентов с МВ был значительно ниже, чем в контрольной группе. Некоторые данные свидетельствуют о нарушении транспорта бикарбоната в эпителиальных клетках почечных канальцев [35; 121].

Имеются данные об изменении способности почек к концентрированию и разведению мочи у пациентов с МВ [4; 10; 33; 35; 62; 187]. При проведении пробы Зимницкого у детей с МВ выявлена изостенурия в 8%, никтурия в 96% и гипостенурия в 28% обследуемых случаев. У части больных отмечались сочетанные изменения [10].

К нарушению функции почки приводит нефротоксичность таких препаратов, как аминогликозиды, которые часто используются у пациентов с МВ при обострении хронического процесса. Учитывая, что синегнойная палочка является наиболее распространенным возбудителем и требует безотлагательной эрадикации, пациенты с МВ сталкиваются с постоянным воздействием нефротоксических препаратов. Эти антибиотики при парентеральном введении



оказывают нефротоксическое действие из-за того, что в их экскреции, кроме фильтрации в клубочках, участвует секреция клетками проксимального канальца. В процессе секреции из крови в просвет канальца эти антибиотики накапливаются в клетках проксимального отдела нефрона, и оказывают токсическое действие. Парентеральное введение аминогликозидов следует избегать совместно с применением нестероидных противовоспалительных препаратов, чтобы предотвратить развитие нефротоксичности [74; 176]. Системная терапия антибиотиков из группы аминогликозидов может приводить к снижению концентрации магния в крови у пациентов с МВ, в том числе и ионизированного магния, а также усилению экскреции магния почкой [4; 52; 128].

Показано, что комбинация препаратов Тобрамицина, Коломицина, Фосфомицина приводит к ферментурии (N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозоаминидазы, аланин-аминопептидазы), суточной потере белка, но эти показатели значительно усиливаются при использовании только комбинации Тобрамицина с Коломицином [49].

Развитие острой почечной недостаточности не редкость для МВ [148]. Она может встречаться, например, при использовании Пиперациллин-тазобактама [123]. Острое повреждение почек происходит в 20% случаев парентерального введения аминогликозидов, но нарушение функции почки, в большинстве случаев, обратимо и не коррелирует с кумулятивным воздействием аминогликозидов [118; 174]. Тем не менее, даже ингаляционные антибиотики достигают значительного уровня сыворотки крови. Острая почечная недостаточность может возникнуть даже при небулайзерной терапии Тобрамицина [48] и Колистина [102]. Имеются данные о двух молодых пациентах с МВ, у которых возникла острая почечная недостаточность после 2-3 недель пероральной терапии препаратами из группы фторхинолонов (Ципрофлоксацин), препараты из группы аминогликозидов пациенты не получали. В крови у этих пациентов выявлено повышение мочевины и креатинина. Ультразвуковое исследование почек показало несколько повышенную эхогенность обеих почек, но никаких других отклонений не прослеживалось [134].

Распространенность хронической почечной недостаточности высока при МВ и связана с возрастом, сахарным диабетом, ассоциированным с МВ, осложненным течением основного заболевания, хронической инфекцией, трансплантацией органов и применением аминогликозидов у пациентов с МВ [51; 75; 148; 172].

Описанные ранее симптомы нарушения функции почек не дают полного представления о степени вовлечения почек в патологический процесс при МВ, остаются нерешенными вопросы состояния водно-солевого обмена и транспорта ионов и воды, механизмов их изменений, и степень вовлечения почек в патогенез заболевания, что требует разработки и проведения функциональных нагрузочных проб.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Объекты исследования**

В период 2017 - 2020 гг. проведено обследование 136 детей в возрасте от 3 месяцев до 18 лет (девочки – 50 (37 %), мальчики – 86 (63%)). Обследование пациентов проходило на базе педиатрического (аллерго-пульмонологического) отделения №2 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Для проведения обследования пациентов получено информированное согласие родителей и одобрение этического комитета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации от 11 ноября 2021 года, выписка № 6.

### **2.2 Характеристика детей с муковисцидозом**

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.

Диагноз МВ был поставлен 19 (38%) пациентам при рождении по результатам неонатального скрининга на иммунореактивный трипсин (ИРТ) (более 70 нг/мл при 2-х кратном измерении) [22], медиана составила 102 [80; 163] нг/мл, и подтвержден положительной потовой пробой. На первом году жизни диагноз был установлен 18 (36%) пациентам по результатам положительного потового теста, медиана составила 100 [85; 118] ммоль/л, также одним из характерных синдромов МВ – псевдо-Барттер, на 1 году жизни был диагностирован у 6 (12%) пациентов. Диагноз поставлен в возрасте старше 1 года 13 (26%) пациентам на основании рецидивирующих бронхитов, внебольничных пневмоний с затяжным течением, частых госпитализаций в стационар, длительных курсов антибактериальной терапии, малых массо-ростовых прибавок, нарушения стула, подтвержден положительной потовой пробой и с помощью молекулярно-генетического исследования для идентификации мутаций гена, кодирующего белок CFTR.

У всех пациентов с МВ диагностировано поражение поджелудочной железы – 50 (100%), что согласно классификации [6], соответствовало классическому МВ с панкреатической недостаточностью (смешанная или легочно-кишечная форма заболевания). На момент исследования у двоих пациентов с МВ не был диагностирован хронический бронхит, их возраст был 3 и 4 месяца, соответственно. Тяжелая степень экзокринной недостаточности поджелудочной железы выявлена у 32 (64%) пациентов, содержание эластаза-1 в кале у них составила менее 100 мкг/г, средняя степень экзокринной недостаточности поджелудочной железы диагностирована у 18 (36%) пациентов. Тяжелое течение МВ отмечалось у 26 (52%) пациентов на основании рецидивирующего высева синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) в мокроте, наличие цирроза печени, кистозные бронхоэктазы по данным компьютерной томографии [6; 16], средней степени тяжести у 24 пациентов (48%). Характерные клинические формы заболевания, выявленные при обследовании пациентов, представлены в таблице

1. При оценке антропометрических данных – медиана индекса массы тела (ИМТ) составил 16 [15; 18] кг/м<sup>2</sup>, при оценке состояния упитанности центильным методом, у пациентов с МВ констатировалась преимущественно «ниже среднего» и «низкая» степень упитанности [1]. При сравнении с группой контроля (здоровые дети) и группой сравнения (внебольничная пневмония), ИМТ пациентов с МВ была статистически значимо ниже,  $p < 0,0001$  и  $p < 0,05$ , соответственно.

Основные жалобы при поступлении в стационар: кашель со слизисто-гнойной мокротой, затрудненное носовое дыхание, одышка, быстрая утомляемость, слабость, боли в животе, учащение стула, стул жирный, «зловонный»; жалоб о нарушении мочевыделительной системы у пациентов с МВ на момент обследования не было.

Таблица 1 – Клинические формы заболевания и их осложнения

Функциональная система:	ХБ	ХБ + ДБ	ХДН		ЛГ	ХР
Дыхательная система			1	2		
N = 50	48	27	15	12	4	24
% от общего числа пациентов	<b>96</b>	<b>54</b>	<b>30</b>	<b>24</b>	<b>8</b>	<b>48</b>
Пищеварительная система	ПН	БЭН			Цирроз печени	ПГ
		1	2	3		
N = 50	50	8	8	3	9	4
% от общего числа пациентов	<b>100</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<b>6</b>	<b>18</b>	<b>8</b>

Примечания: ХБ – хронический бронхит, ДБ – двусторонние бронхоэктазы, ХДН – хроническая дыхательная недостаточность 1, 2 степени, ЛГ – легочная гипертензия 1 степени, ХР – хронический риносинусит; ПН – панкреатическая недостаточность, БЭН – белково-энергетическая недостаточность 1, 2, 3 степени, ПГ – портальная гипертензия.

Полученные данные показывают, что хронический бронхит (96%), панкреатическая недостаточность (100%) были основными проявлениями у обследуемых пациентов (таблица 1).

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. Клиническая симптоматика в зависимости от типа мутации гена, кодирующий белок CFTR, представлена в таблице 2, 3.

Таблица 2 – Клиническая симптоматика поражения респираторного тракта и тип мутаций гена у обследованных пациентов с МВ

Тип мутации:	N	Возраст	ХБ	ХБ + ДБ	ХДН	ЛГ	ХР
delF508 (гомозигота)	17	5,5 [2,5; 13]	16	11	9	4	11
delF508 (гетерозигота)	16	7,3 [5; 12,2]	16	10	8	3	6
394 delTT (гетерозигота)	2	5,3 [4,9; 5,7]	2	1	1	1	
2184 ins A (гомозигота)	1	7,6	1	-	1	-	-
1677delTA	1	6,10	1	-	1	-	-
Gly480Asp в экзоне 11	1	7	1	1	-	-	-
R344W	1	10,1	1	1	-	-	1
G542X/3849+10kbC->T	2	12,3 [11,9; 13,6]	2	-	2		2
218insA/2143delT	1	10,9	1	1	-	-	1
L138ins/W1282R	1	3	1	-	1	-	-
Мутации не обнаружены	7	4,2 [4,1; 12,9]	6	2	-	-	3

Примечания: ХБ – хронический бронхит, ДБ – двусторонние бронхоэктазы, ХДН – хроническая дыхательная недостаточность, ЛГ – легочная гипертензия, ХР – хронический риносинусит.

Таблица 3 – Клиническая симптоматика поражения желудочно-кишечного тракта и тип мутаций генов у обследованных пациентов с МВ

Тип мутации	N	Возраст	ПН	БЭН	Цирроз печени
delF508 (гомозигота)	17	5,5 [2,5; 13]	17	9	4
delF508 (гетерозигота)	16	7,3 [5; 12,2]	16	8	3
394 delTT (гетерозигота)	2	5,3 [4,9; 5,7]	2	-	-
2184 ins A (гомозигота)	1	7,6	1	-	-
1677delTA	1	6,10	1	1	-
Gly480Asp в экзоне 11	1	7	1	-	-
R344W	1	10,1	1	-	-
G542X/3849+10kbC->T	2	5,3 [4,9; 5,7]	2	-	-
218insA/2143delT	1	10,9	1	-	1
L138ins/W1282R	1	3	1	-	-
Мутации не обнаружены	7	4,2 [4,1; 12,9]	7	1	1

Примечание: ПН – панкреатическая недостаточность, БЭН – белково-энергетическая недостаточность.

Поражение респираторного тракта (хронический бронхит, двусторонние бронхоэктазы), хроническая панкреатическая недостаточность преобладали при генетическом варианте delF508 как в гомозиготном состоянии, так и в гетерозиготном состоянии (таблицы 2, 3). У пациентов с генетическим вариантом delF508 (гомозигота, гетерозигота) наиболее распространенными осложнениями основного заболевания были хроническая дыхательная недостаточность, легочная гипертензия, белково-энергетическая недостаточность, цирроз печени с портальной гипертензией, чем при других типах мутаций.

На момент поступления в стационар пациенты с МВ получали базисную терапию – ингаляционную, муколитическую терапию с целью уменьшения вязкости мокроты и облегчения ее эвакуации (Дорназа альфа (Пульмозим),

гипертонический раствор NaCl, 6%, 7%). Коррекцию внешнесекреторной панкреатической недостаточности у детей проводилась с помощью заместительной терапии панкреатическими ферментами (Креон 10000 ЕД, 25000 ЕД), дозировки препарата были подобраны индивидуально.

Всем пациентам с поражением респираторного тракта, у которых отмечалось обострение заболевания МВ на момент поступления в стационар, а также при выявлении возбудителей с помощью забора мазков из носа зева, посева мокроты на флору, назначалась антибактериальная терапия с целью эрадикации причинно-значимых микроорганизмов.

По результатам посевов мокроты на флору у пациентов выявлена следующая микрофлора: *Achromobacter xyloxidans* – 5 (10%), *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* – 8 (16%), *Stenotrophomonas maltophilia* – 2 (4%), *Staphylococcus aureus* – 25 (50%), *Streptococcus viridians* – 35 (70%), *Staphylococcus epidermidis* – 5 (10%), *Streptococcus pneumonia* – 4 (8%), *Pseudomonas aeruginosa* – 33 (66%), *Burkholderia cepacia* – 3 (6%), *Acinetobacter baumannii* – 6 (12%), *Haemophilus parainfluenza* – 3 (6%), *Enterococcus faecalis* – 1 (2%), *Serratia marcescens* – 2 (4%), *Candida* – 12 (24%).

Пациенты с МВ получали антибактериальную терапию по результатам посевов мокроты на флору и чувствительности к антибиотикам, в том числе и аминогликозиды, которые обладают нефротоксичностью и чаще всего используются при высеве *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка). Среди обследуемых пациентов парентеральную терапию Амикацином получали 13 (26%), курсом 10 [7; 11], ингаляционную терапию Тобрамицином получили 24 (48%) пациента, 8 (16%) пациентов одновременно получали парентеральную и ингаляционную терапию из группы аминогликозидов.

### 2.3 Характеристика пациентов групп сравнения и контрольной группы

Группу сравнения составили 50 пациентов с внебольничной пневмонией (ВП) (девочки – 17 (34%), мальчики – 33 (66%)), медиана возраста 12 [7; 15].



Критерии включения: характерная клиническая картина в виде повышения температуры до фебрильных значений, кашель, симптомы интоксикации, вялость, слабость, дыхательная недостаточность 1-3 степени. Наличие локальной симптоматики – при проведении перкуссии притупление перкуторного тона, при аускультации мелкопузырчатые влажные хрипы, крепитация. Клинические симптомы подтверждены наличием очагово-инфильтративных изменений на рентгенограмме органов грудной полости. Лечение пациентов с ВП включало антибактериальную и симптоматическую терапию, физиотерапию, массаж. Критерии исключения: отказ родителей на проведение функциональных нагрузочных проб.

Группу сравнения составили 11 пациентов с ПЦД (девочки – 7 (64%), мальчики – 4 (36%)), которые поступали в стационар для планового обследования и лечения. Медиана возраста составила 9 [6; 14]. Критерии включения: хронический бронхит, бронхоэктазы, хронический синусит, хронический отит (триада Картагенера с обратным расположением внутренних органов), патологические изменения по данным световой микроскопии (отсутствие движения или неадекватный паттерн движения ресничек мерцательного эпителия) и/или электронной микроскопии (патология строения ресничек) биоптата слизистой оболочки носа и/или бронха [38]. 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.

В группу контроля вошли 25 здоровых детей (девочки – 14 (56%), мальчики – 11 (44%)). Медиана возраста составила 16 [13; 16]. Критерии включения: на момент сдачи анализов крови и мочи дети не имели хронических заболеваний, у них не было интеркуррентной инфекции, они не получали лекарственные препараты в течение последних 3 месяцев перед проведением нагрузочных проб. Дети проходили плановый осмотр у врача – педиатра для занятий в спортивной школе. Критерии исключения: отказ детей и их родителей на проведение обследования и функциональных нагрузочных проб.

## 2.4 Методы функционального исследования

У пациентов производился сбор жалоб, анализ анамнеза заболевания и жизни. У обследуемых детей проводилось физикальное обследование, в том числе оценка физического развития – антропометрические измерения (масса, рост, с 2 лет – ИМТ). Физическое развитие оценивалось по общепринятой методике [1; 32; 39; 200].

Всем детям рассчитывался ИМТ по формуле:  $\text{ИМТ} = \text{Вес ребенка (кг)} / \text{рост (м}^2\text{)}$ . Для детей до 10 лет были использованы таблицы определения ИМТ, рекомендованные ВОЗ, где, помимо массы и роста (длины), учитываются возраст и пол ребенка.

Лабораторные методы исследования включали – клинический анализ (исследование гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, скорости оседания эритроцитов (СОЭ)) крови, биохимический анализа крови (аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), билирубин общий, амилаза, мочевины, альбумин, глюкоза, общий белок (ОБ), С - реактивный белок (СРБ)), кислотно-основное состояние крови (КОС), общий анализ мочи, микробиологическое исследование мокроты (индуцированная мокрота или трахеальный аспират), определения панкреатической эластазы – 1 иммуноферментным методом в кале (норма содержания эластазы в кале – от 200 до 500 мкг Е1/г стула и более, средняя степень экзокринной панкреатической недостаточности – от 100 до 200 мкг Е1/г стула, тяжелая степень экзокринной панкреатической недостаточности – менее 100 мкг Е1/г стула).

*Потовая проба.* Для определения электролитного состава пота использовали классический метод пилокарпинового электрофореза по Гибсону и Куку (1959 г) [16]. Интерпретация результатов классического прямого метода определения хлоридов пота и потовой пробы путем определения проводимости пота с помощью специальных потовых анализаторов представлена на рисунке 5.

Метод потового теста	Норма (ммоль/л)	Пограничный результат (ммоль/л)	Положительный результат (ммоль/л)
Классический (по Гибсону-Куку)	< 30	30-59	$\geq 60$ но не выше 150
Проводимость	< 50	50-79	$\geq 80$ но не выше 170

Рисунок 5 – Интерпретация результатов потового теста [6]

*Генетическое исследование.* Молекулярно-генетическая диагностика пациентам с МВ проводилась в лаборатории пренатальной диагностики наследственных болезней федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», город Санкт-Петербург, а также в лаборатории молекулярной генетики и медицинской геномики федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, город Москва [22].

Инструментальные методы обследования у пациентов с ВП – рентгенограмма органов грудной полости в 2-х проекциях; у пациентов с МВ и ПЦД – ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, мочевого пузыря, почек, компьютерная томография органов грудной полости, брюшной полости и придаточных пазух носа, бронхоскопия с взятием смывов для посева на флору, а также браш биопсия для определения частоты паттерна движения ресничек мерцательного эпителия.

*Диагностическая проба на осмотическое концентрирование мочи.* В классическом применении по Фольгарду [122], обследуемый должен находиться в режиме водной депривации в течение 36 часов, что для детей неприемлемо. В детской практике ограничение жидкости в течение 18 - 24 часов, так как более

длительное лишение жидкости ребенок плохо переносит из-за жажды и часто возникающих осложнений (лихорадка, головная боль, тошнота, галлюцинации, потеря сознания, судороги), но так же имеются противопоказания у детей раннего возраста, и при активности воспалительного процесса.

В настоящем исследовании проба на концентрирование проводилась по следующей схеме: последний прием пищи (ужин) в 19:00, вечером у пациента регистрировали время последнего мочеиспускания перед сном, в течение всей ночи пациент ничего не ел, не пил и не мочился. Утром в день исследования регистрировали время первого мочеиспускания, собирали всю первую пробу мочи в мерную емкость, измеряли ее объем, проводили лабораторное исследование.

*Диагностическая проба с водной нагрузкой.* В классическом применении во время проведения исследования не дается пища, и обследуемый пациент находится в полупостельном режиме. Используют воду комнатной температуры в объеме 20 мл/кг массы тела. Это количество жидкости пациент выпивает в течение 15-30 минут, после чего опорожняется мочевого пузыря.

Для исследования осморегулирующей функции почек у обследованных детей была выполнена проба с водной нагрузкой. Она проводилась по следующей схеме: после сбора первой утренней пробы (после ночной водной депривации), натошак давали выпить воду в объеме 10 мл на кг массы тела в течение 10 минут. Затем, через 1 час, происходило второе мочеиспускание, измеряли объем мочи, проводили лабораторное исследование (рисунок 6).

В зависимости от тяжести течения болезни, состояния пациентов, согласие родителей на проведение пробы, в группе МВ проба с водной нагрузкой выполнена у 19 пациентов, из них 8 девочек (42%) и 11 (58%) мальчиков. Медиана возраста составила 11 [8; 15]. В группе сравнения (ВП) пробу с водной нагрузкой получили 44 пациента (девочки – 15 (34%), мальчики – 29 (66%)), медиана возраста 12 [7; 15].

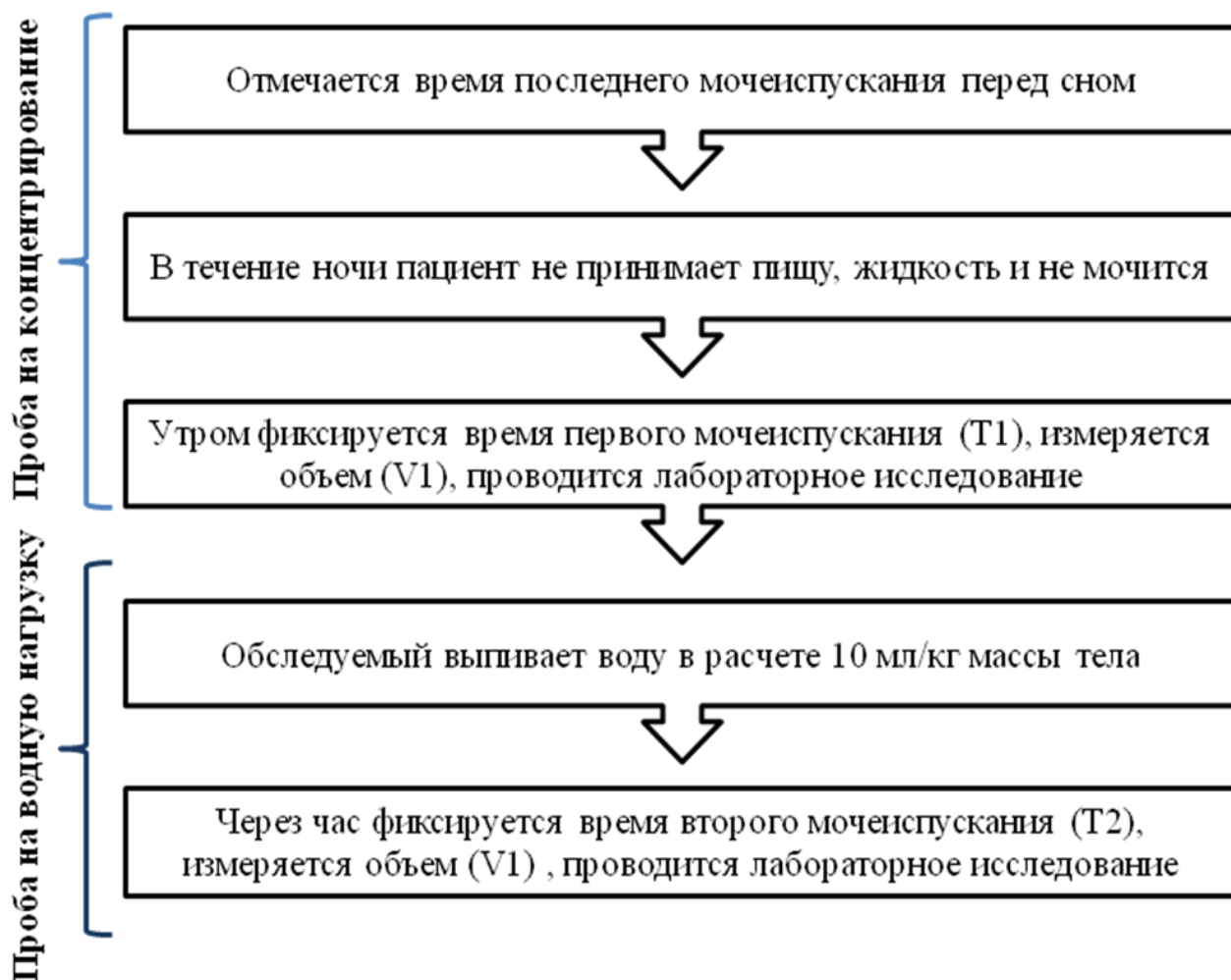


Рисунок 6 – Алгоритм проведения нагрузочных проб у детей

## 2.5 Методы исследования физико-химических параметров сыворотки крови и мочи

Исследование физико-химических параметров сыворотки крови и мочи проводилось 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.

Пробы венозной крови после взятия и свертывания центрифугировали при комнатной температуре на центрифуге «ЛМС-3000» (Латвия) при 8000 оборотах в течение 15 мин.

*Измерение осмоляльности* проб сыворотки крови и мочи производили криоскопическим методом на микроосмометре «Advanced Instruments, Inc 3300» (США). Предварительно проводили калибровку микроосмометра с помощью стандартных растворов (Advanced Instruments, Inc., США) с осмоляльностью 50, 290, 850 мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$ . Измерение осмоляльности проб в объеме 20 мкл проводилось по точке замерзания, результаты выражались в мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$ .

*Измерение концентрации ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$*  в пробах мочи производили на пламенном 2-канальном фотометре «Sherwood-420» (Великобритания), предварительно пробы разводили в 400 раз после ночного сна (водная депривация), в 100 раз после водной нагрузки. Калибровочную кривую строили с помощью стандартных растворов (Advanced Instruments, Inc., США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Концентрацию  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  в сыворотке крови измеряли с помощью ионоселективного блока на автоматическом биохимическом анализаторе «Erba XL-200» (Чехия) в нативных пробах. Предварительно ионоселективный блок калибровали с использованием Эрба раствора для ISE ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) блока (Medica, Германия).

Концентрацию  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в пробах сыворотки крови и мочи измеряли в воздушно-ацетиленовом пламени на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Shimadzu AA-6200» (Япония). Калибровочную кривую строили с помощью стандартных растворов (Aldrich Chemical Company Inc., США) с концентрацией  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.100 ммоль/л. Ноль на приборе устанавливали по дистиллированной воде. Предварительно пробы для измерения концентрации  $\text{Mg}^{2+}$  разводили в 400 раз при водной депривации, в 100 раз после водной нагрузки. Пробы для измерения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  разводили в 20 раз при водной депривации, в 10 раз после водной нагрузки.

*Измерение концентрации креатинина.* Концентрация креатинина в пробах крови и мочи для расчета скорости клубочковой фильтрации определялась кинетическим методом по реакции Яффе без депротеинизации на автоматическом биохимическом анализаторе «Erba XL-200» (Чехия). Для измерения концентрации

креатинина в сыворотке крови использовалась нативная проба. Пробы мочи предварительно разводили в 50 раз при водной депривации, в 20-10 раз после водной нагрузки.

*Измерение концентрации вазопрессина и копептина.* Для определения концентрации вазопрессина и копептина в аликвоты мочи добавляли ингибитор протеаз апротинин (500 KIU/ml), после чего пробы немедленно помещали в холодильные камеры и хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Определение гормонов проводили с помощью наборов для иммуноферментного анализа – для вазопрессина (Enzo Life Sciences, США), для копептина (MyBioSource, Inc., США). Измерение оптической плотности и расчет концентраций пептидных гормонов осуществляли на автоматическом ридере ELx800 (BIO-TEK Instruments, США) в 96-луночных планшетах по методике соответствующих тест-систем.

Общий анализ мочи проводили на автоматической станции IRIS (Beckman Coulter, США), включающей биохимический анализатор iChem Velocity и анализатор для микроскопии мочи iQ200 Sprint. Содержание белка в моче определяли на спектрометре AP-101, Япония.

## 2.6 Формулы, расчеты, статистический анализ полученных данных

На основании полученных результатов сыворотки крови и проб мочи рассчитывали показатели, характеризующие функциональное состояние почек [21]. Показатели функций почек рассчитывали и нормализовали на  $1,73 \text{ м}^2$  площади поверхности тела.

Минутный диурез (V):  $V = V_1/T$ , в мл/мин.

$V_1$  – объем собранной пробы мочи в миллилитрах;

T – время в минутах, за которое собиралась проба мочи.

Формула расчета клиренса креатинина ( $C_{Cr}$ ), мл/мин/ $1,73 \text{ м}^2$  площади поверхности тела:  $C_{Cr} = U_{Cr} \cdot V / P_{Cr}$ , где  $U_{Cr}$  – концентрация креатинина в моче,  $P_{Cr}$  – концентрация креатинина в сыворотке крови, V – диурез на  $1,73 \text{ м}^2$  площади

поверхности тела.  $V = C_{H_2O} + C_{Osm}$ , где  $C_{H_2O}$  – клиренс осмотически свободной воды,  $C_{Osm}$  – клиренс осмотически активных веществ.

Клиренс осмотически активных веществ ( $C_{Osm}$ , мл/мин) определяли по формуле:  $U_{Osm} / P_{Osm} \times V$ , где  $U_{Osm}$  – концентрация осмотически активных веществ в моче,  $P_{Osm}$  – концентрация осмотических активных веществ в сыворотке крови.

Клиренс осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ , мл/мин) определяли по формуле:  $C_{H_2O} = V - (U_{Osm} / P_{Osm} \times V)$ , где  $U_{Osm}$  – концентрация осмотически активных веществ в моче,  $P_{Osm}$  – концентрация осмотических активных веществ в сыворотке крови.

Концентрационный показатель осмотически активных веществ рассчитывался по формуле:  $U_{Osm} / P_{Osm}$ .

Реабсорбция осмотически свободной воды  $T^C_{H_2O}$ , мл/мин:  $T^C_{H_2O} = C_{Osm} - V$ , где  $C_{Osm}$  – клиренс осмотически активных веществ.

Клиренс свободной от натрия воды  $C^{Na}_{H_2O} = V \times (U_{Na} - P_{Na}) / P_{Na}$ .

Клиренс свободной от калия воды  $C^K_{H_2O} = V \times (U_K - P_K) / P_K$ .

$U_{Na}$ ,  $U_K$  – концентрация вещества в моче,  $P_{Na}$ ,  $P_K$  – концентрация вещества в сыворотке крови.

Для определения скорости клубочковой фильтрации (СКФ) использовалась формула Schwartz для детей и подростков до 18 лет [25; 73]:

$СКФ \text{ (мл/мин/1,73м}^2\text{)} = L : Cr \times K$ . Примечание:  $Cr$  – креатинин сыворотки (мг/дл),  $L$  – рост (см),  $K$  – коэффициент, равный 0,45 для детей до 1 года, 0,55 для детей в возрасте 1-18 лет и 0,7 для юношей с большой мышечной массой. Перевод показателя сывороточного креатинина из ммоль/л в мг/дл осуществляется умножением этого значения на 11,3.

Статистическую обработку осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2007 с использованием пакета анализа данных и STATISTICA 6.0. При нормальном распределении согласно критерию Шапиро-Уилка использовался метод расчета среднего арифметического ( $M$ ), средней ошибки ( $m$ ). Сравнение между группами проводили с использованием одно – или двухфакторного



дисперсионного анализа и теста Холм-Шидака для попарного сравнения средних значений. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Когда распределение отличалось от нормального, при статистической обработке данных использовались методы непараметрической статистики, адекватные поставленным задачам. Результаты номинальных признаков выражены в абсолютных числах с указанием долей (%). Показатели вариации для количественных данных описывались медианой (Me) и верхним и нижним квартилями [Q1; Q3]. Значимость различия в независимых выборках оценивали посредством U-критерия Манна-Уитни, а в связанных выборках – с помощью критерия Уилкоксона. Для сравнения трех и более количественных, независимых переменных использовался критерий Крускала-Уолиса. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального) или Пирсона (при нормальном распределении показателей). Для графического отображения взаимодействия признаков построены корреляционные диаграммы.

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 3.1 Параметры состояния водно-солевого обмена и функции почек при муковисцидозе у детей

У 23 (46%) детей с МВ выявлен ряд симптомов нарушения функции почек и водно-солевого обмена: увеличение клиренса креатинина, гипостенурия и изменение мочевого осадка в виде оксалурии, кальциурии, фосфатурии, протеинурии, лейкоцитурии, эритроцитурии, глюкозурии. Оксалурия встречалась у 12 (24%) обследованных детей. Сочетание нескольких симптомов изменения функции почки было у 7 (14%) пациентов. Эти симптомы обнаруживались практически с одинаковой частотой у мальчиков и девочек и во всех возрастных группах. По результатам УЗИ почек у 2 пациентов (4%) выявлено уплотнение чашечно-лоханочной системы. Из сопутствующих заболеваний у 3 (6%) пациентов выявлены: мочекаменная болезнь, хронический пиелонефрит, энурез, дисметаболическая нефропатия. Симптомы нарушения функции почек при разных типах мутациях представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Симптомы нарушения функции почки и тип мутации при МВ

Тип мутации	delF508 гомозигота	delF508 гетерозигота	L138in s/W128 2R	G542 X/384 9+10k bC- >T	218ins A/2143 delT	394 delTT гетерозигота	Мутации не обнаружены
Симптомы	N	N	N	N	N	N	N
Оксалурия	4	4	1	1	-	-	2
Фосфатурия	1	-	1	-	-	-	2
Кальциурия	1	-	-	-	-	-	-
Лейкоцитурия	1	-	-	-	-	-	-
Протеинурия	2	1	-	-	-	-	2

Продолжение таблицы 4 – Симптомы нарушения функции почки и тип мутации при МВ

Эритроцитурия	2	1	-	-	1	-	2
Глюкозурия	1	-	-	-	-	-	-
Гипостенурия	2	-	-	1	-	1	-

Симптомы нарушения функции почек встречались, преимущественно, при мутации delF508 (таблица 4). У 11 (22%) пациентов от общего числа обследованных с МВ, такие симптомы, как оксалурия, эритроцитурия, протеинурия диагностированы при тяжелом течение заболевания, а также при рецидивирующем высеве в мокроте синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*).

Сопоставление данных лабораторного обследования у пациентов с МВ и здоровых детей показало, что основные параметры сыворотки крови находятся в пределах стандартных значений нормы [14]. Концентрация креатинина в сыворотке была ниже у пациентов с МВ по сравнению со здоровыми детьми.

Концентрация ОБ и глюкозы в крови у пациентов с МВ составила 68 [65; 72] г/л и 4,6 [4,2; 5,1] ммоль/л, что соответствовало норме. На момент поступления в стационар уровень СРБ был повышен у 5 (10%) пациентов (более 5 мг/л), показатели уровня СОЭ превышала 15 мм/час у 12 пациентов (24%). Концентрация лейкоцитов, гемоглобина была в пределах нормы у всех обследуемых детей и составила  $7 [6,4; 9] \cdot 10^9/\text{л}$  и 135 [126; 139] г/л, соответственно. Результаты физико-химических показателей сыворотки крови представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Физико-химические показатели сыворотки крови у пациентов с МВ, Ме [Q1; Q3]

Параметры:	Показатели нормы	ЗД, n = 25	МВ, n = 50
$P_{Na}$ , ммоль/л	136-145	139 [139; 140]	140 [138; 141]

Продолжение таблицы 5 – Физико-химические показатели сыворотки крови у пациентов с МВ, Ме [Q1; Q3]

$P_K$ , ммоль/л	3,4-4,7	4,5 [4,4; 4,7]	4,4 [4,2; 4,6]
$P_{Cl}$ , ммоль/л	98-107	103 [103; 104]	104 [103; 106]
$P_{Ca}$ , ммоль/л	2,2-2,55	2,4 [2,3; 2,5]	2,5 [2,3; 2,6]
$P_{Mg}$ , ммоль/л	0,65-1,05	0,82 [0,80; 0,85]	0,84 [0,75; 0,91]
$P_{Osm}$ , мОсм/кг $H_2O$	280-295	287 [285; 289]	291 [289; 293]
$P_{Cr}$ , мкмоль/л	27-88	78 [74; 83]	48 [42; 55]*

Примечание: референсные значение нормы по [14]. ЗД – здоровые дети.  
\* $p < 0.05$  к группе ЗД.

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 отличалась 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. Такие высокие значения СКФ не могут быть, исходя из данных объема крови и доли кровотока, поступающего в почку, поэтому представляло интерес проанализировать причины высоких расчетных значений клиренса креатинина.

Креатинин является одним из конечных продуктов азотистого обмена, эта реакция происходит в мышцах, затем креатинин поступает в кровь, полностью фильтруется в клубочках, практически не секретируется и не реабсорбируется в канальцах. Это позволило использовать креатинин для расчета клубочковой фильтрации. Содержание креатинина в крови зависит от объема мышечной массы (рисунки 7, 8). У детей с МВ мышечная масса развита слабее, что могло предопределять меньшую концентрацию креатинина в крови (рисунок 9). Для проверки высказанного предположения были проведены специальные расчеты.

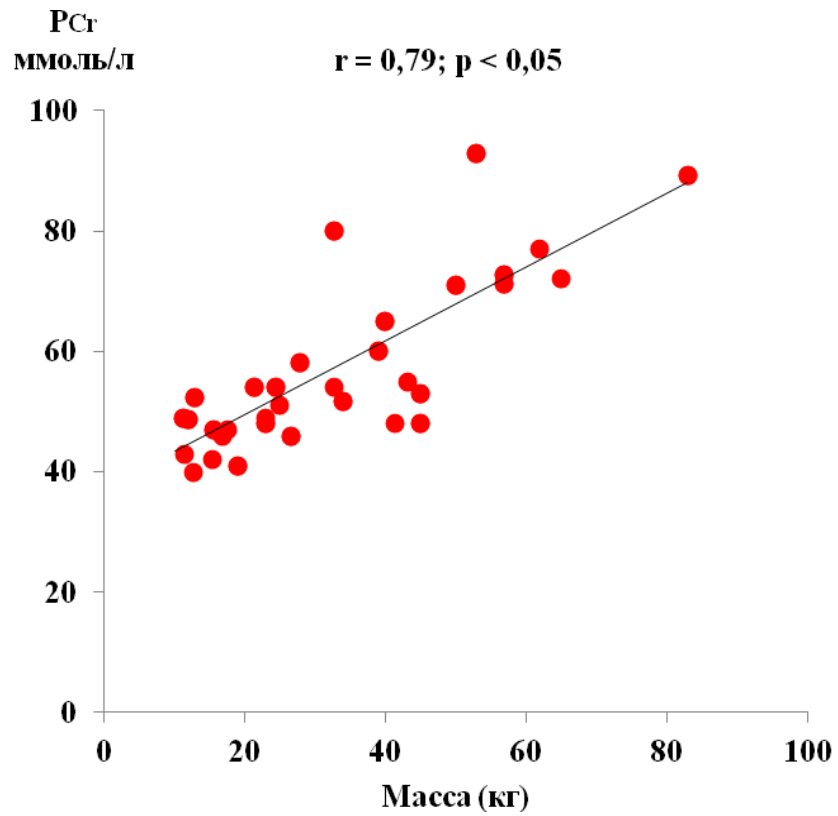


Рисунок 7 – Сопоставление концентрации креатинина и массы тела у пациентов с МВ

Примечание: ось ординат – концентрация креатинина в сыворотки крови, мкмоль/л; ось абсцисс – масса тела пациентов с МВ в килограммах.

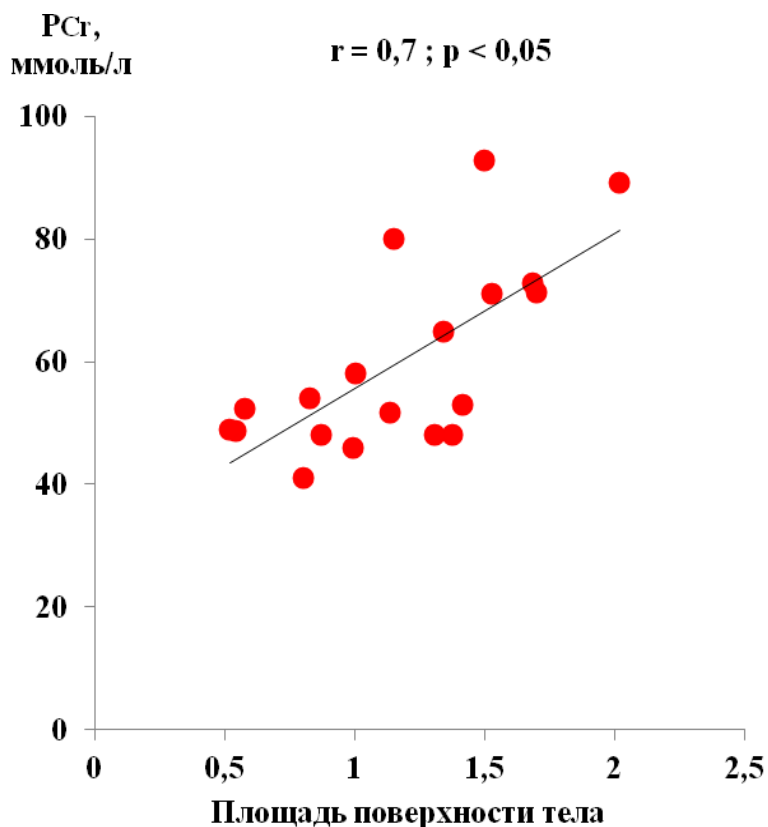


Рисунок 8 – Сопоставление концентрации креатинина и площади поверхности тела у пациентов с МВ

Примечание: ось ординат – концентрация креатинина в сыворотки крови, ммоль/л; ось абсцисс – площадь поверхности тела (S) в м<sup>2</sup>.

Сопоставление данных о массе тела у пациентов с МВ и расчет должного значения этого показателя в зависимости от возраста, роста и массы данного ребенка показало, что имеются значительное снижение массы тела у обследованных детей, оно составляет 15,4%. В связи с этим расчетное значение скорости гломерулярной фильтрации у обследованных детей (на основании клиренса креатинина) было сопоставлено с должным значением, исходя из возраста, роста и массы тела (рисунок 10),  $p < 0,001$ . Полученные результаты показали, что при учете этого фактора,  $C_{Cr}$  при МВ не отличается от здоровых детей данной возрастной категории.

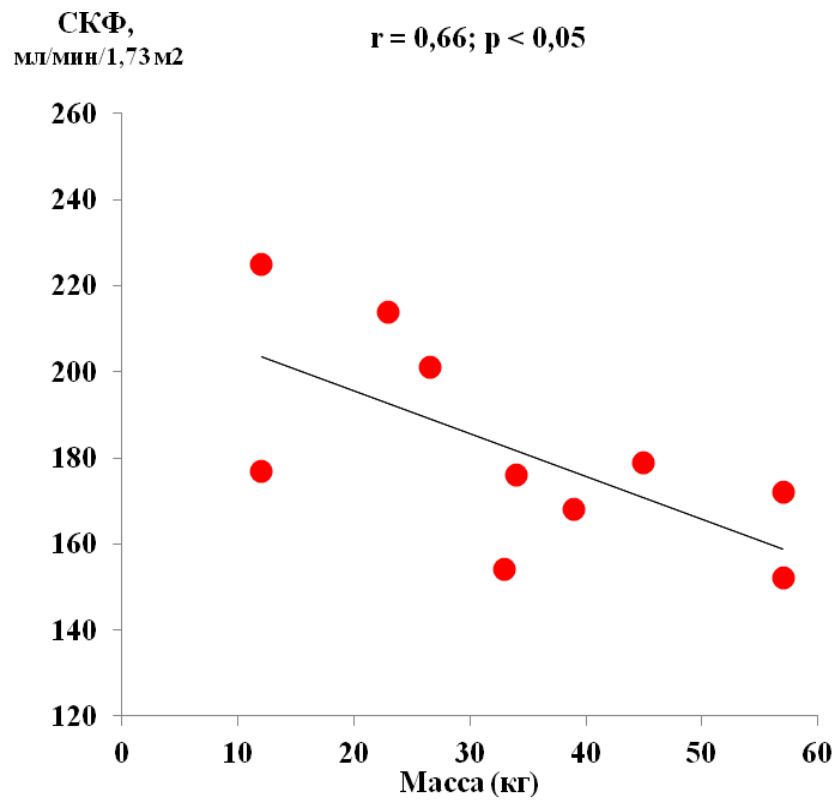


Рисунок 9 – Сопоставление расчетного значения СКФ (по клиренсу креатинина) и массы тела у пациентов с МВ

Примечание: ось ординат – скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>; ось абсцисс – масса тела пациентов с МВ в килограммах.

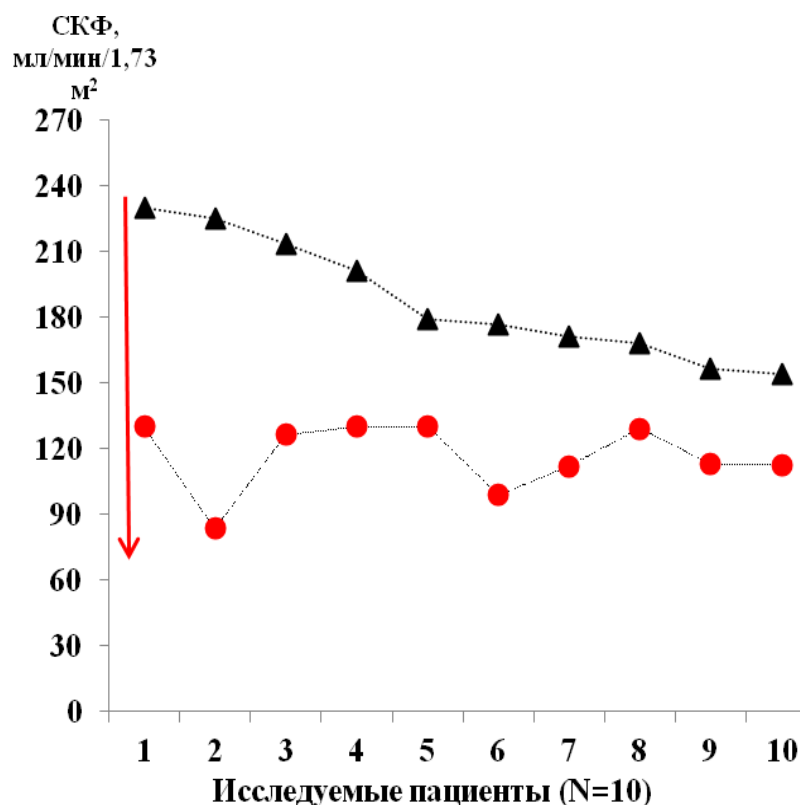


Рисунок 10 – Сопоставление расчетного значения СКФ (по клиренсу креатинина) – треугольники с клиренсом – кружки, исходя из возраста, роста и массы тела ребенка

Примечание: ось ординат – скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м². Ось абсцисс – обследуемые пациенты с МВ (N = 10).

### 3.2 Водно-солевой обмен и функции почек у детей контрольной и группы сравнения

У детей контрольной группы (здоровые дети) не было выявлено нарушения водно-солевого обмена и функционального состояния почек на момент обследования, основные показатели сыворотки крови у них были в пределах нормы (таблица 6).

Тяжелое течение ВП установлено 15 (30%) пациентам, учитывая критерии тяжести [28]: сочетание кашля и одышки с дыхательной недостаточностью 2 степени, отказ от еды и питья, наличия осложнений в виде плеврита, абсцесса легких. Основные жалобы у пациентов с ВП на момент поступления были –



кашель, повышения температуры тела до фебрильных цифр, симптомы интоксикации, вялость, слабость, отказ от еды, воды, дыхательная недостаточность 1, 2 степени. Объективный осмотр выявил наличие локальной симптоматики – при проведении перкуссии притупление перкуторного тона, при аускультации мелкопузырчатые влажные хрипы, крепитация над очагом поражения легких. Клинические симптомы подтверждены наличием очагово-инфильтративных изменений на рентгенограмме органов грудной полости у 28 (56%) пациентов в правом легком, у 22 (44%) пациентов в левом легком.

При оценке физико-химических параметров сыворотки крови пациентов с ВП выявлено, что концентрация натрия выше по сравнению с пациентами с МВ и здоровыми детьми, также статистически значимо выше концентрация креатинина в сыворотки крови по сравнению с МВ и ПЦД (таблица 6), напротив концентрация хлора была статистически значимо ниже по сравнению с пациентами с ПЦД. В анализе крови у пациентов с ВП выявлены повышения маркеров воспаления: СРБ – 22 [13; 55] мг/л, СОЭ – 22 [16; 41] мм/час.

Таблица 6 – Физико-химические показатели сыворотки крови у пациентов в обследуемых группах, Ме [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]*	142 [140; 145]* <sup>В</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>В</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>В Δ</sup>

Примечание: ПЦД – первичная цилиарная дискинезия, ВП – внебольничная пневмония, ЗД – здоровые дети. \* $p<0.05$  к группе здоровые дети; # $p<0.05$  к ВП;  $\beta p<0.05$  к пациентам с МВ;  $\Delta p<0.05$  к пациентам с ПЦД.

При госпитализации в стационар выявлены симптомы изменения функции почки у 18 (36%) пациентов с ВП, у некоторых пациентов было сочетание нескольких симптомов: протеинурия у 17 (34%) пациентов (более 0,1 г/л), лейкоцитурия у 5 (10%) пациентов, эритроцитурия у 5 (10%) пациентов. При контрольном исследовании общего анализа мочи на момент выписки из стационара, патологии выявлено не было.

Все пациенты получали парентеральную и пероральную антибактериальную терапию с учетом посевов мокроты на флору (Цефтриаксон, Меронем, Кларитромицин, Ровамицин, Спирамицин), пероральную, муколитическую терапию (Амброксол, Флуимуцил), симптоматическую терапию, массаж, физиотерапию.

Жалобы пациентов с ПЦД при поступлении – кашель, затрудненное носовое дыхание со слизисто-гнойным отделяемым. Клиническая картина была представлена хроническим бронхитом у 11 (100%) пациентов, наличие 2-х сторонних бронхоэктазов по результатам компьютерной томографии легких было выявлено у 8 (73%) пациентов. У 5 (45%) пациентов была хроническая дыхательная недостаточность 1 степени, у 7 (64%) пациентов – хронический полипозный риносинусит, обратное расположение органов было выявлено у 5 (45%) пациентов.

Физико-химические параметры сыворотки крови пациентов с ПЦД представлены в таблице 6. Концентрация натрия была выше по сравнению с группой контроля, а концентрация хлора была статистически значимо выше при сравнении с пациентами с МВ и здоровыми детьми. Концентрация креатинина в сыворотке крови была статистически значимо ниже по сравнению с пациентами с ВП и группой здоровых детей. Симптомы нарушения функции почек у пациентов с ПЦД выявлено не было.

По результатам посевов мокроты на флору у пациентов с ПЦД выявлена следующая микрофлора: *Staphylococcus aureus* – 8 (73%), *Haemophilus parainfluenza* – 2 (18%), *Streptococcus pneumonia* – 1 (9%), *Streptococcus viridians* – 6 (55%), *Staphylococcus epidermidis* – 3 (27%), *Pseudomonas aeruginosa* – 2 (18%), *Acinetobacter baumannii* – 1 (9%), *Candida* – 4 (36%). Пациенты получили следующую антибактериальную терапию: Цефтриаксон, Меронем, Ципрофлоксацин.

### 3.3 Осморегулирующая функция почки у пациентов с муковисцидозом

Данные литературы указывают на наличие электролитных нарушений у пациентов с МВ [94]. Имеются данные о некоторых нарушениях транспорта почечных веществ, связанные с реабсорбцией натрия [62; 84; 184]. Ионы натрия являются основным компонентом осмоляльности сыворотки крови, а почки играют ключевую роль в осморегуляции у человека. Осморегуляторная функция почек позволяет организму адаптироваться к разнообразным условиям окружающей среды и поддерживать стабильные физико-химические параметры сыворотки крови, внеклеточной жидкости [29; 184; 185]. Представлял большой интерес выяснить особенности осморегулирующей функции почек у детей с МВ.

Оценка осморегулирующей функции должна включать данные о способности почек разводить и концентрировать мочу [73]. У взрослых используют тест Фольгарда на состояние процессов разведения и концентрирования мочи [73; 178]. Проблема заключается в том, что у детей, особенно при патологии, трудно выполнить классическую пробу Фольгарда в полном объеме – ограничение жидкости в течение 48 часов или водную нагрузку в объеме 20 мл/кг массы тела. Возникла необходимость поиска нового варианта пробы водной нагрузки у детей для оценки осморегулирующей функции почки. Чтобы сделать водную пробу клинически применимой в педиатрической практике была необходима иная функциональная проба.

*Осморегулирующая функция почки после водной депривации*

При обследовании взрослых была разработана новая форма функциональной пробы [18], на основе аналогичного подхода у взрослых, способность к осмотическому концентрированию мочи оценивалась в течение ночи, дети не принимали жидкость и еду, этот период принимался за контроль. У пациентов с МВ осмоляльность проб мочи, собранных утром после ночного сна, 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, чем у здоровых детей, преимущественно за счет возрастания клиренса натрия и клиренса осмотически активных веществ (таблица 7, 8).

Таблица 7 – 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		контрольная группа 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>H<sub>2</sub>O</sub>	-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>H<sub>2</sub>O</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]

Примечание: уровень значимости (p) приведен для обследуемых групп в таблице ниже.

параметры функции почки	муковисцидоз n = 19, уровень значимости, p			пневмония n = 44, уровень значимости, p			контроль n = 25, уровень значимости, p
	исходный период/ водная нагрузка	муковисцидоз/ контроль исходный период	муковисцидоз/ контроль водная нагрузка	исходный период/ водная нагрузка	пневмония/ контроль исходный период	пневмония/ контроль водная нагрузка	исходный период/ водная нагрузка
V, мл/мин	<0.05	<0.05	NS	<0.05	<0.05	NS	<0.05
U <sub>Osm</sub> , мОсм/кг H <sub>2</sub> O	<0.05	<0.05	NS	<0.05	<0.05	NS	<0.05
U <sub>Osm1</sub> - U <sub>Osm2</sub>	-	<0.05			<0.05		-
U <sub>Osm</sub> / P <sub>Osm</sub>	<0.05	<0.05	NS	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C <sub>Osm</sub> , мл/мин	<0.05	<0.05	NS	<0.05	NS	NS	<0.05
C <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	NS	<0.05
T <sup>C</sup> <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	NS	<0.05
C <sub>Cr</sub> , мл/мин	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Примечание: V – диурез, C<sub>Osm</sub> – клиренс осмотически активных веществ, C<sub>H<sub>2</sub>O</sub> – клиренс осмотически свободной воды, T<sup>C</sup><sub>H<sub>2</sub>O</sub> – реабсорбция осмотически свободной воды; C<sub>Cr</sub> – клиренс креатинина; NS – не достоверно.

Таблица 8 – Показатели клиренса ионов натрия и калия, свободной от ионов натрия и калия воды после водной нагрузки у обследуемых детей, Me [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
$C_{Na}$ , 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]
$C_K$ , 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]
$C_{H_2O}^{Na}$ , 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]
$C_{H_2O}^K$ , 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: уровень значимости (p) приведен для исследуемых групп в таблице ниже.

параметры функции почки	муковисцидоз n = 19, уровень значимости, p			пневмония n = 44, уровень значимости, p			контроль n = 25, уровень значимости, p
	исходный период/ водная нагрузка	муковисцидоз/ контроль исходный период	муковисцидоз/ контроль водная нагрузка	исходный период/ водная нагрузка	пневмония/ контроль исходный период	пневмония/ контроль водная нагрузка	исходный период/ водная нагрузка
$C_{Na}$ , мл/мин	NS	<0.05	<0.05	NS	NS	NS	<0.05
$C_K$ , мл/мин	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	NS	<0.05
$C_{H_2O}^{Na}$ , мл/мин	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	<0.05	<0.05
$C_{H_2O}^K$ , мл/мин	<0.05	NS	NS	<0.05	NS	NS	<0.05

Примечание:  $C_{Na}$ ,  $C_K$  – клиренс натрия, калия соответственно;  $C_{H_2O}^{Na}$ ,  $C_{H_2O}^K$  – клиренс воды, свободной от ионов натрия, калия, соответственно.

В представленных таблицах контроль – это здоровые дети.



Таким образом, у детей с МВ сохраняется способность почек к осмотическому концентрированию мочи, а увеличение диуреза происходит за счет салуреза - большей экскреции в первую очередь ионов натрия.

#### *Осморегулирующая функция почки после водной нагрузки*

В пробе Фольгарда для исследования осморегулирующей функции почек у человека используется водная нагрузка 20 мл на кг массы тела. Ее назначение в том, чтобы полностью подавить секрецию вазопрессина и выявить максимальную способность почек к осмотическому разбавлению мочи. Задача настоящей работы заключалась в том, чтобы выявить способность осморегулирующей системы организма реагировать на снижение осмоляльности сыворотки крови в сопоставлении с детьми контрольной группы (здоровые дети) и пациентами с ВП. При стандартной водной нагрузки ребенок должен выпить за 20-30 минут воду в объеме 2% к массе тела. При массе тела 30 кг это составляет 600 мл. Уговорить детей выполнить такую пробу не возможно. Нами была использована проба в расчете 10 мл на кг массы.

При использовании такой модифицированной пробы с водной нагрузкой – 10 мл на кг массы тела, что в два раза меньше, чем в стандартной пробе Фольгарда у пациентов с МВ наблюдалось трехкратное увеличение диуреза (таблица 7), за счет роста экскреции, преимущественно, осмотически свободной воды, осмотических веществ. Происходило снижение осмоляльности проб мочи, которая в большинстве случаев была ниже осмоляльности крови, минимальные значения осмоляльности проб мочи достигали 110 мОсм / кг H<sub>2</sub>O, а значение концентрационного показателя после водной нагрузки стали менее 1. Клиренс осмотически активных веществ не отличался у пациентов с МВ от обследованных пациентов с ВП и здоровых детей. Клиренс натрия был выше у пациентов с МВ по сравнению со здоровыми детьми (таблица 8), его значение не изменилось после водной нагрузки (таблица 8). СКФ статистически значимо не изменилась после водной нагрузки у пациентов с МВ (таблица 7).

*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. Основными критериями выступают увеличение диуреза, снижение осмоляльности проб мочи, положительные значения клиренса осмотически свободной воды. Разница между осмоляльностью проб мочи в контрольном периоде и после водной нагрузки представлена в таблице 7, у пациентов с МВ она составила 354 [228; 494] мОсм/кг  $H_2O$ . Проанализирована корреляция между значением снижения осмоляльности проб мочи ( $U_{Osm1}-U_{Osm2}$ ) после пробы с водной нагрузкой и его значением в контрольном периоде для каждого обследуемого (рисунок 11).

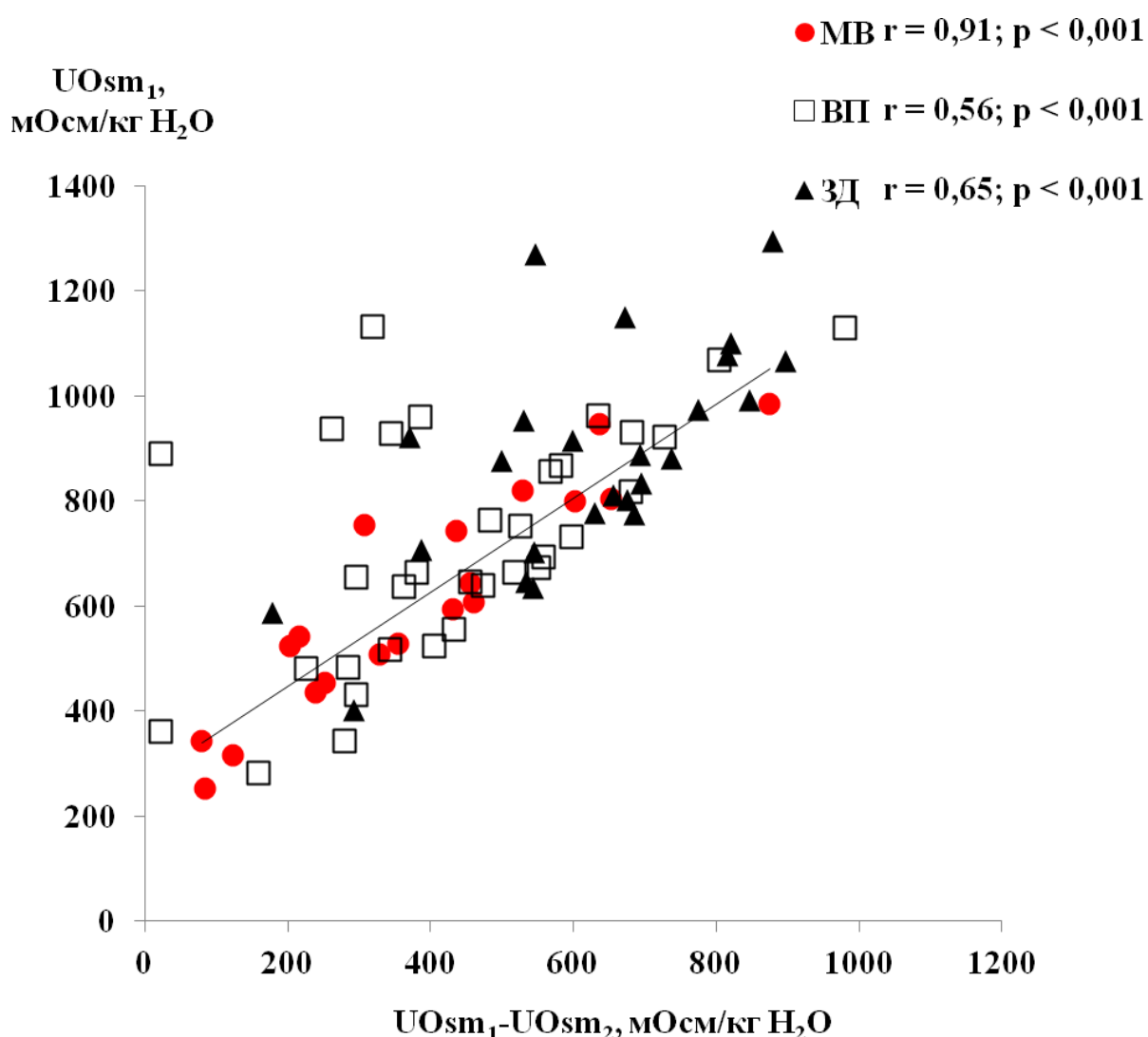


Рисунок 11 – Сравнение осмоляльности проб мочи в контрольном периоде и величиной ее снижения после водной нагрузки у пациентов с МВ, ВП и контрольной группы (здоровые дети)

Примечание: Ось ординат – концентрация осмотически активных веществ в пробах мочи при водной депривации. Ось абсцисс – разница между концентрацией осмотически активных веществ в пробах мочи при водной депривации и водной нагрузке.

Во всех группах обнаружена положительная корреляция между осмоляльностью проб мочи в исходном состоянии утром (после водной депривации) и величиной ее снижения ( $U_{Osm1} - U_{Osm2}$ ) после водной нагрузки. У пациентов с МВ она составила  $r = 0,91$ ,  $p < 0,001$  (рисунок 11). Эти данные свидетельствуют об адекватности осморегуляторного ответа почки на пробу с водной нагрузкой в объеме 10 мл на кг массы тела как у пациентов с МВ, так и у пациентов с ВП и здоровыми детьми, иными словами сохранностью системы осморегуляции у обследованных пациентов.

*Клиренс свободной от натрия воды и чувствительность системы осморегуляции почек на водную нагрузку у пациентов с муковисцидозом*

Проблема осморегуляции тесно связана с регуляцией объема клеток в организме животных и человека [179]. Стабильность клеточного объема во многом определяется осмоляльностью внеклеточной жидкости, которая зависит от осморегуляторной функции почек. Если у пациентов при МВ высоко чувствительная регуляция объема клеток организма, то диагностически она может быть выявлена при изучении клиренса почкой свободной от натрия воды [19], благодаря которой обеспечивается адекватный уровень осмоляльности сыворотки крови для клеток.

Концентрация натрия с сопутствующими анионами, прежде всего хлоридами, определяет осмоляльность внеклеточной жидкости, которая должна быть сопоставима с осмоляльностью содержимого клетки, где доминируют прежде всего ионы калия. Мочевина важна при оценке осморегулирующей

функции почек, но при рассмотрении соотношения осмоляльности внутри и вне большинства тела клеток она не играет роли, так как плазматические мембраны большинства клеток свободно проницаемы для мочевины и ее концентрация практически одинакова в цитоплазме и внеклеточной жидкости. Иное дело в клетках нефрона, собирательных трубках. Для оценки состояния осморегулирующей функции почек был рассчитан клиренс свободной от натрия воды, который позволяет селективно оценить функцию почки, направленную на поддержание объема любых клеток организма, и сопоставлен с клиренсом осмотически свободной воды (рисунок 12) [19].

В контрольном периоде только пациенты с МВ показали высокую корреляцию между клиренсом осмотически свободной воды и клиренсом свободной от натрия воды (рисунок 12). Напротив, у пациентов с ВП и в группе контроля (здоровые дети) не обнаружено связи между этими параметрами (рисунок 12).

После теста с водной нагрузкой у пациентов всех обследуемых наблюдалось статистически значимое повышение клиренса свободной от натрия воды (таблица 8). У детей с МВ после водной нагрузки клиренс свободной от натрия воды увеличился в 20,8 раз, у здоровых детей в 30 раз (таблица 8).

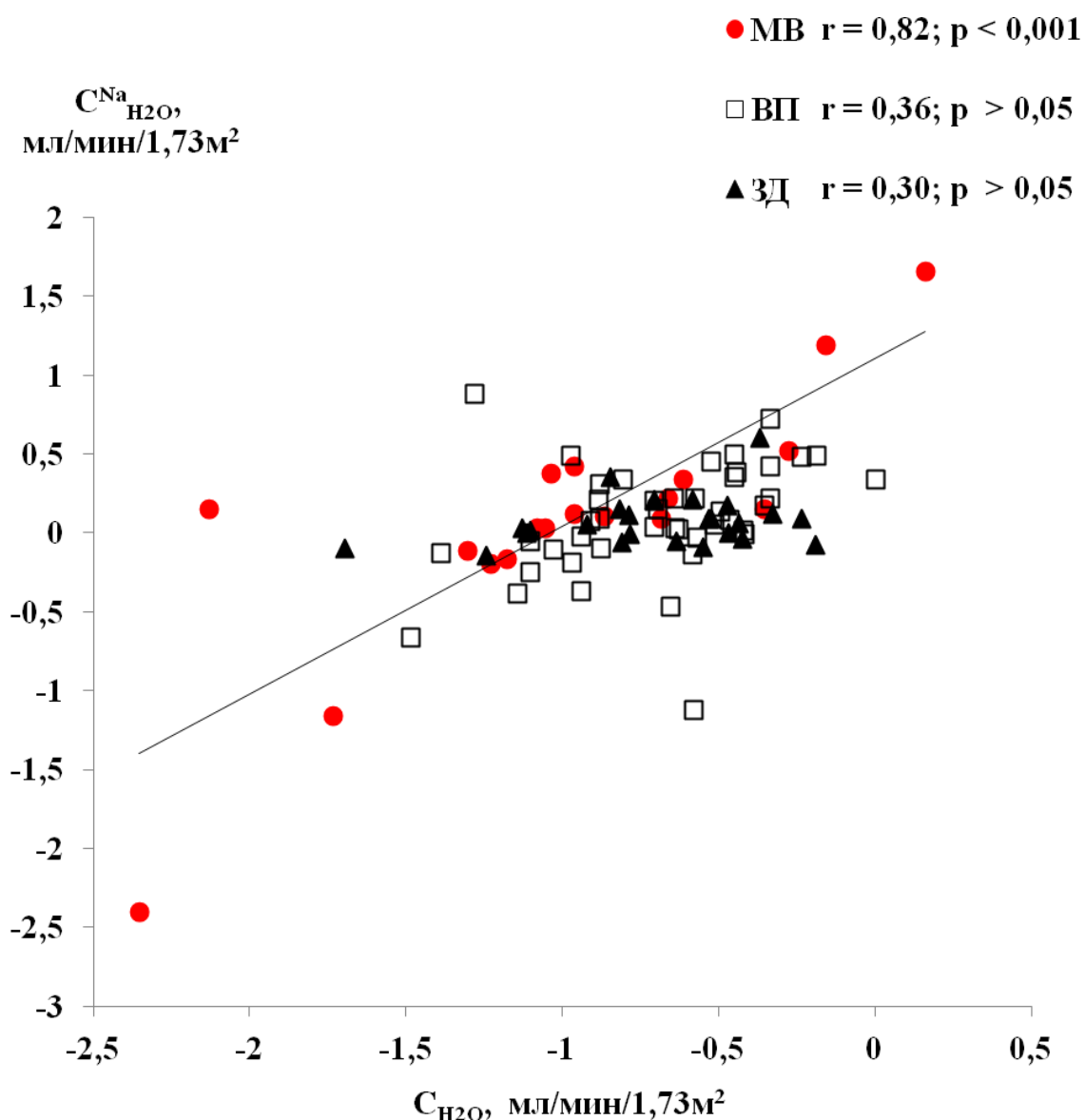


Рисунок 12 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) и клиренсом свободной от натрия воды ( $C_{H_2O}^{Na}$ ) у обследованных детей в контрольном периоде

Примечание: Ось ординат – клиренс свободной от натрия воды, ось абсцисс – клиренсом осмотически свободной воды при водной депривации.

После введения водной нагрузки, когда отмечена быстрая реакция системы осморегуляции, пациенты всех обследованных групп реагировали одинаково. Положительная корреляция между клиренсом осмотически свободной воды и клиренсом свободной без натрия воды была выявлена во всех обследуемых группах (рисунок 13). При оценке в качестве критерия при осморегуляции

клиренса свободной от натрия воды пациенты с МВ оказались более чувствительны по сравнению с пациентами с ВП и контрольной группой.

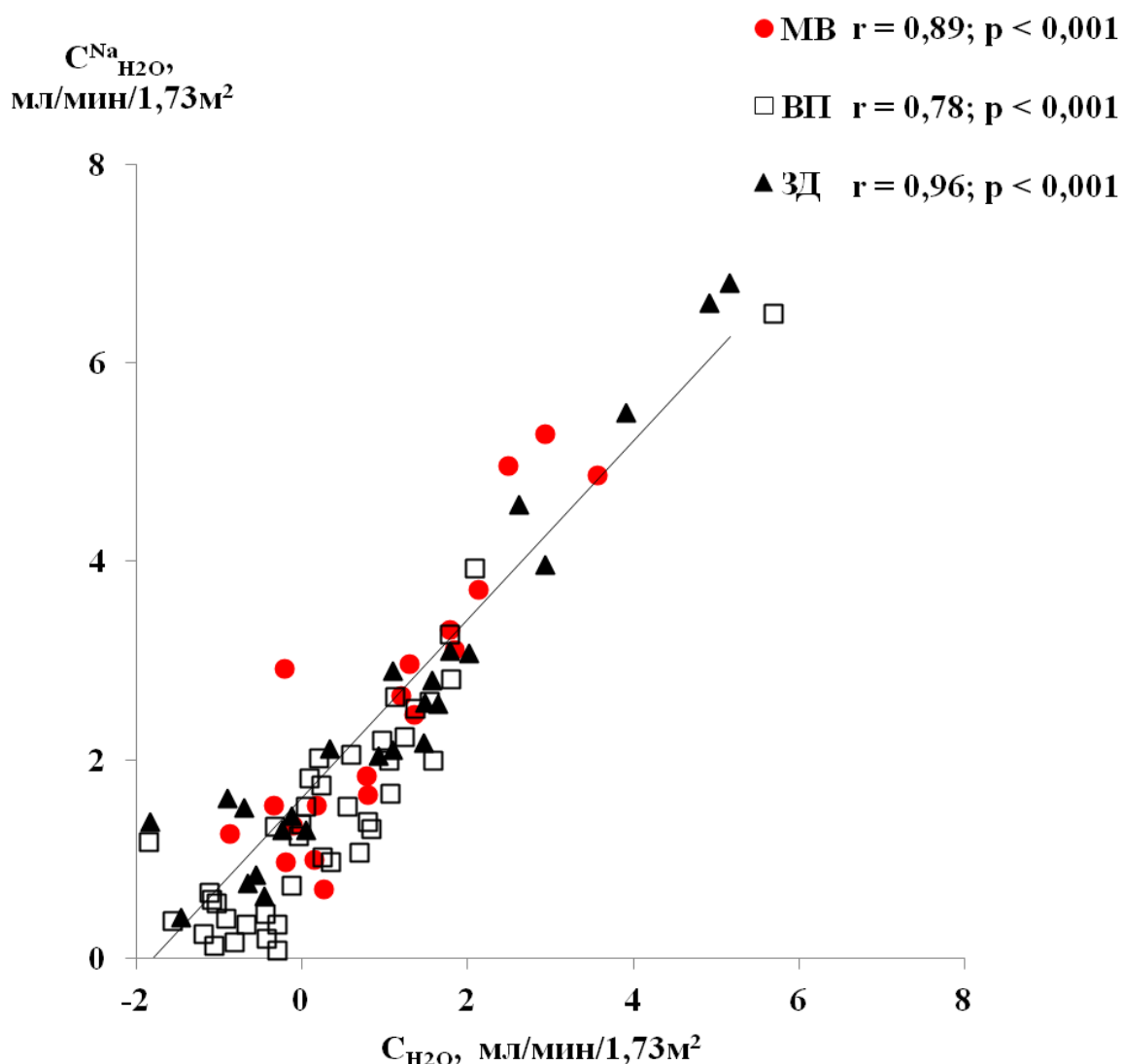


Рисунок 13 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) и свободной от натрия воды ( $C_{Na_{H_2O}}$ ) у обследованных детей после водной нагрузки

Примечание: Ось ординат – клиренс свободной от натрия воды, ось абсцисс – клиренсом осмотически свободной воды при водной нагрузке.

Использование в качестве критерия показатель расчета клиренса свободной от натрия воды при МВ было впервые использовано в нашей работе. Поэтому важно было оценить специфичность роли натрия по сравнению с другими ионами, прежде всего ионами калия. Для оценки селективности реакции

осморегуляторной системы на ионы натрия, был рассчитан клиренс свободной от калия воды (таблица 8). Как в контрольном периоде, так и после водной нагрузки, однако в отличие от клиренса свободной от натрия воды, не было выявлено зависимости между клиренсом осмотически свободной воды и свободной от калия воды, у пациентов с МВ ( $r = 0,38$ ,  $p > 0,05$  и  $r = 0,24$ ,  $p > 0,05$ , соответственно). Аналогичная картина наблюдалась при ВП и у детей контрольной группы (таблица 8, рисунок 14, 15).

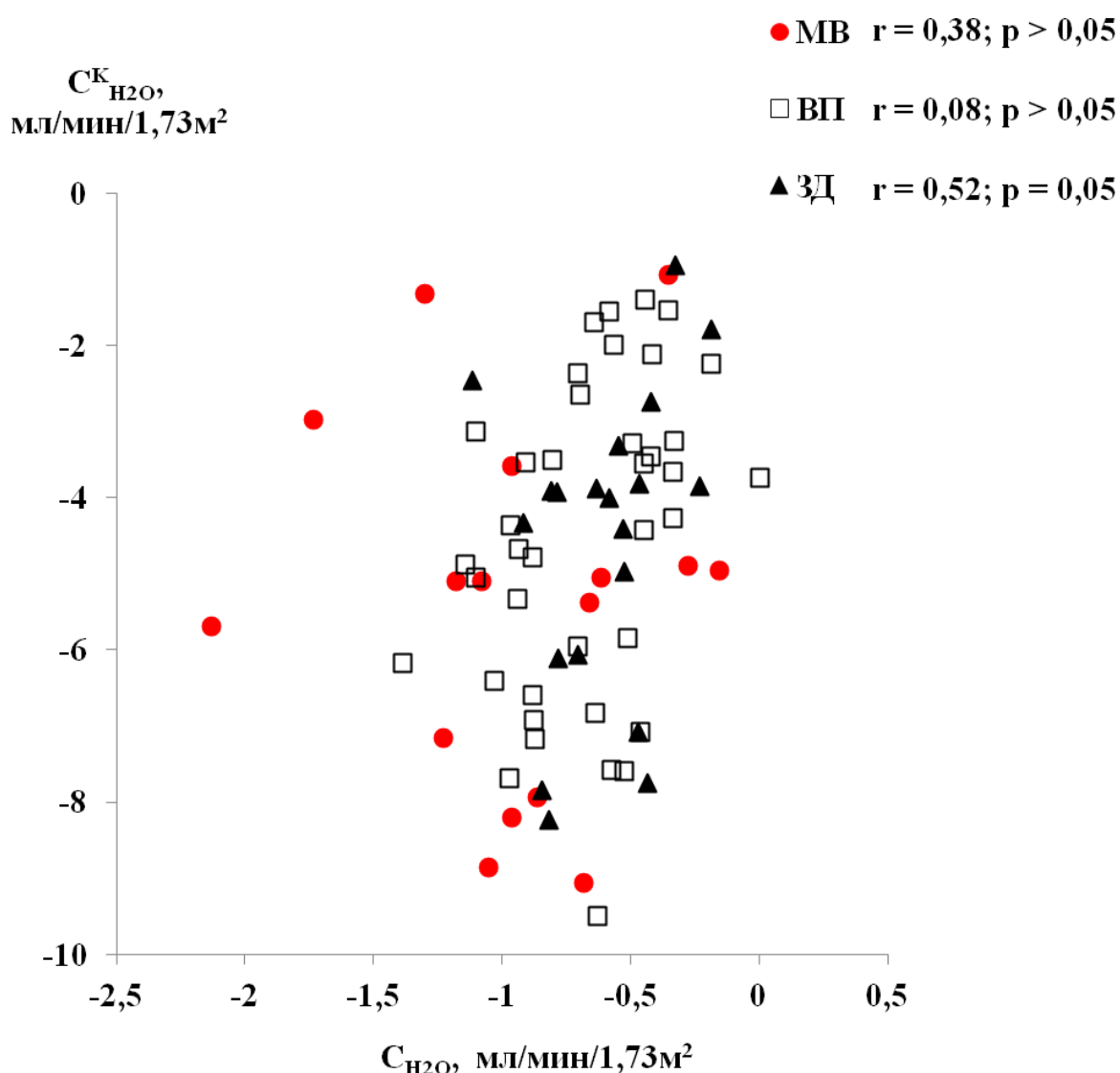


Рисунок 14 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) и свободной от калия воды ( $C_{H_2O}^K$ ) у обследованных детей на фоне водной депривации

Примечание: Ось ординат – клиренс свободной от калия воды, ось абсцисс – клиренсом осмотически свободной воды при водной депривации.

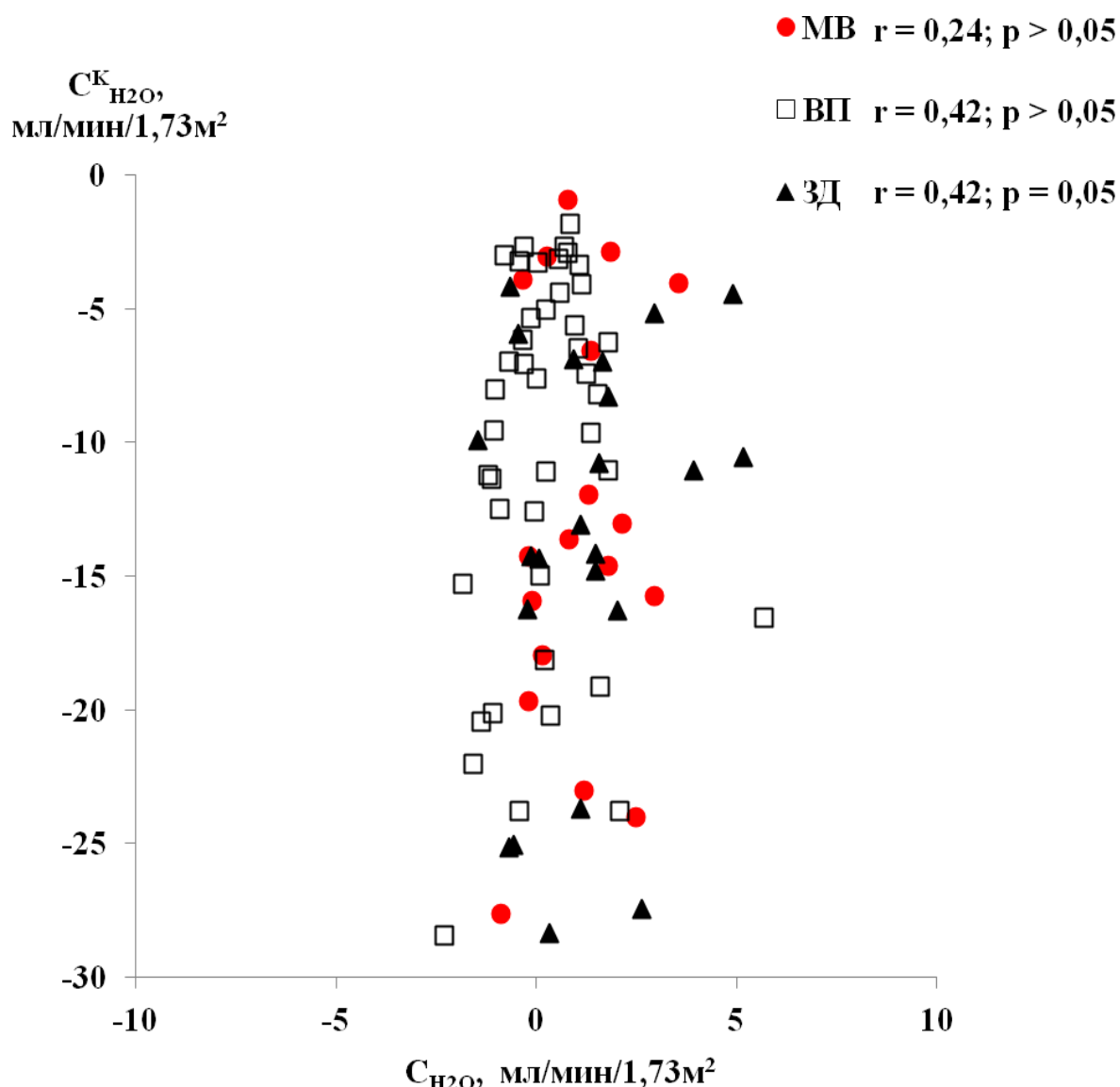


Рисунок 15 – Зависимость между клиренсом осмотически свободной воды ( $C_{H_2O}$ ) и свободной от калия воды ( $C_{H_2O}^K$ ) у обследованных детей после водной нагрузки

Примечание: Ось ординат – клиренс свободной от калия воды, ось абсцисс – клиренсом осмотически свободной воды при водной депривации.

Полученные данные свидетельствуют о селективности расчета только клиренса свободной от ионов натрия воды для оценки состояния осморегуляции при МВ. В случае ионов калия не было найдено закономерных изменений, следовательно, отличия касаются клиренса воды, свободной от ионов натрия во



внечелочной жидкости, но не воды, свободной от ионов калия (рисунки 12, 13, 14, 15). Это находит отражение и в пищевом предпочтении у некоторых пациентов с МВ, когда у них снижается концентрация натрия в сыворотке крови и изменяется солевой аппетит.

### **3.4 Осморегулирующая функция почки у группы сравнения и группы контроля**

У пациентов с ВП и контрольной группы осмоляльность проб мочи была выше осмоляльности сыворотки крови в исходном периоде, происходила реабсорбция воды, не содержащей растворенных веществ (таблица 7). Максимальные значения осмоляльности проб мочи у пациентов с ВП и контрольной группы достигали в ночное время до 1131 и 1294 мОсм / кг  $H_2O$  соответственно, что соответствует показателям нормы у здоровых людей [14]. Клиренс осмотически активных веществ, а также клиренс ионов натрия и калия в исходном периоде у пациентов с ВП не отличались от здоровых детей (таблица 7, 8). СКФ при водной депривации статистически значимо не отличалась в обследуемых группах детей (таблица 7).

После водной нагрузки у детей контрольной группы отмечено девятикратное увеличение диуреза, реабсорбция осмотически свободной воды в исходном периоде сменилась ее экскрецией после водной нагрузки (таблица 7).

В норме питье воды приводит к гипоосмоляльности сыворотки крови, что вызывает увеличение водного диуреза и обусловлено снижением секреции вазопрессина [92]. После водной нагрузки у 9 пациентов с ВП не происходило статистически значимого увеличения диуреза (рисунок 16), сохранялась высокая осмоляльность проб мочи (рисунок 16), происходила реабсорбция осмотически свободной воды (рисунок 16), следовательно, продолжалось действие вазопрессина на почку.

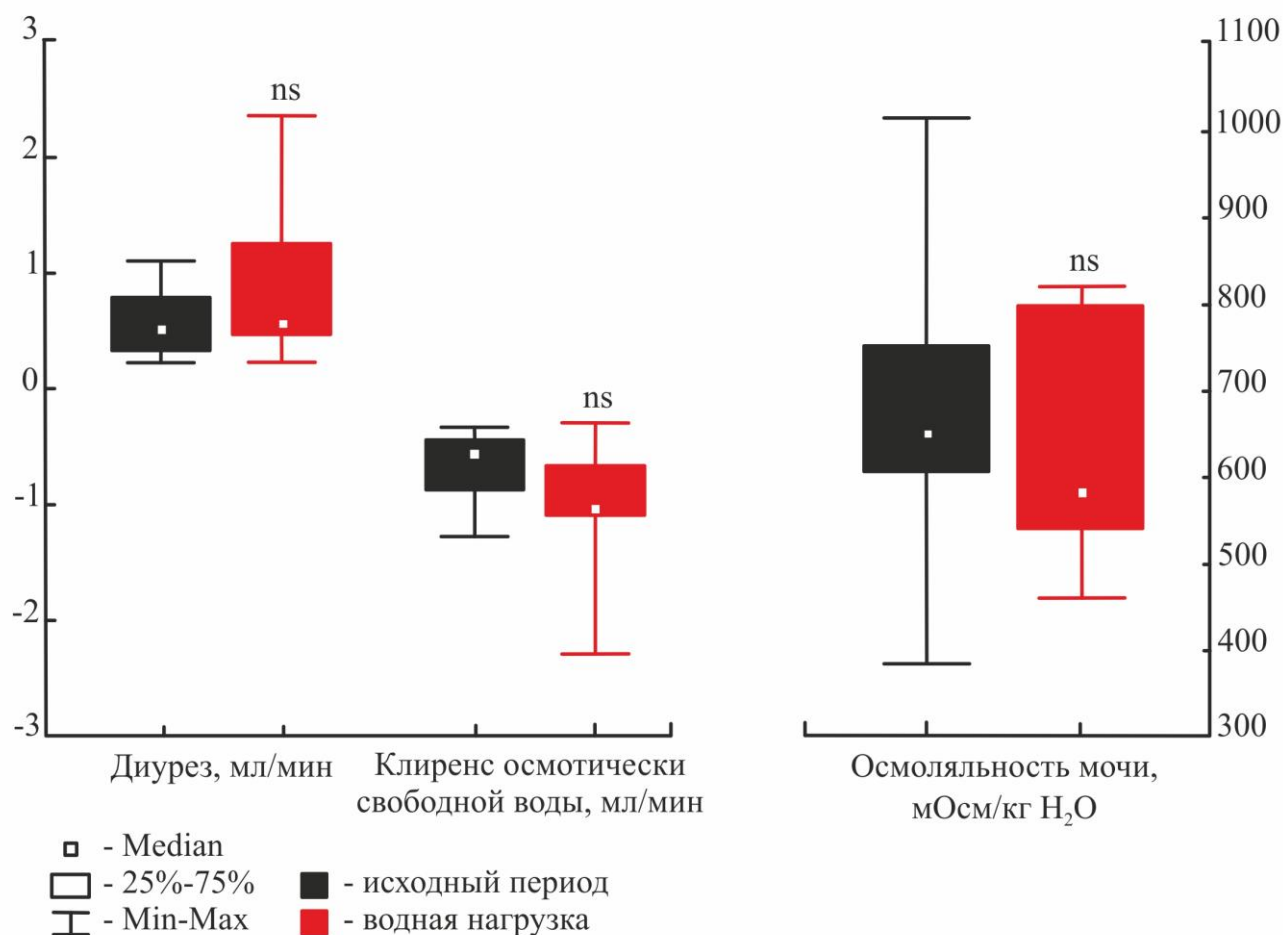


Рисунок 16 – Показатели диуреза, осмоляльности пробы мочи, клиренса осмотически свободной воды до и после водной нагрузки у пациентов с ВП (N = 9)

Примечание: данные приведены, Me [Q1; Q3], \* $p > 0,05$ .

Естественными стимулами для секреции вазопрессина служат обезвоживание организма, увеличение осмоляльности крови и уменьшение ее объема [44; 61]. Имеются патологические состояния, когда растет концентрация этого гормона в крови, не связанная с перечисленными стимулами. Такое состояние трактуется, как синдром неадекватной секреции вазопрессина (SIADH). Этот синдром выявлен при некоторых расстройствах центральной нервной системы, опухолях (мелкоклеточный рак) и при патологии легких, в том числе при тяжелом течение пневмонии [12; 13; 24; 46; 83; 88; 138; 147; 190; 193]. Литературные данные свидетельствуют о том, что этот синдром может встречаться у пациентов с МВ [193]. Клинический случай пациента с МВ и обострением бронхолегочного процесса показывает сочетание

гипоосмоляльности сыворотки крови (256 мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$ ), гипонатриемии (123 ммоль/л) и высокой осмольности мочи (425 мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$ ), что укладывалось в SIADH. На фоне лечения основного заболевания, ограничения жидкости, использование диуретиков, показатели сыворотки крови данного пациента пришли в норму [193]. Также имеются данные о сочетании высокой концентрации вазопрессина в крови у пациентов с МВ и низкой осмоляльности сыворотки крови и концентрации натрия [47; 111].

Учитывая отсутствия реакции на водную нагрузку, возникло предложение, что у 9 из 44 пациентов с ВП имеется SIADH. У этих пациентов отмечалось тяжелое течение пневмонии с выраженными симптомами интоксикации, дыхательной недостаточностью 2 степени, длительной фебрильной лихорадкой, дети периодически отказывались от питья. При оценке физико-химических параметров сыворотки крови у этих пациентов выявлена низкая осмоляльность крови 281 [280; 284] мОсм/кг  $\text{H}_2\text{O}$ , а концентрация натрия в крови 137 [136; 137] ммоль/л находилась по нижней границе нормы.

Остальные 35 детей с ВП реагировали на водную нагрузку увеличением диуреза, за счет экскреции осмотически свободной воды, снижали осмоляльность проб мочи. Для изучения выделения вазопрессина у пациентов с тяжелым течением ВП была измерена концентрация в моче вазопрессина и копептина (таблица 9), который освобождается вместе с вазопрессином в процессе секреции в нейрогипофизе, секретируется в эквимолярном количестве [157]. 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 [43]. Возникло предположение о возможности использования мочи в диагностических целях для оценки концентрации вазопрессина, так как этот гормон фильтруется в клубочках и может экскретироваться почкой. Эта гипотеза была проанализирована в нашей работе.

Таблица 9 – Исследование концентрации вазопрессина и копептина в моче обследованных детей, Ме [Q1; Q3]

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

Примечания:  $U_{ADH}(BH)$ ,  $U_{Co}(BH)$  – концентрация вазопрессина и копептина в пробах мочи при водной нагрузке. КГ – контрольная группа, здоровые дети. \* $p < 0.05$  к исходному периоду, до водной нагрузки.  $\beta p < 0.05$  – к SIADH.

Полученные результаты показали, что имеется высокая концентрация этого гормона 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 ВП после водной нагрузки показало высокую корреляцию между этими показателями (рисунок 17), что указывает на сходство секреции нонапептида в гипофизе и экстрагипофизарных локусах.

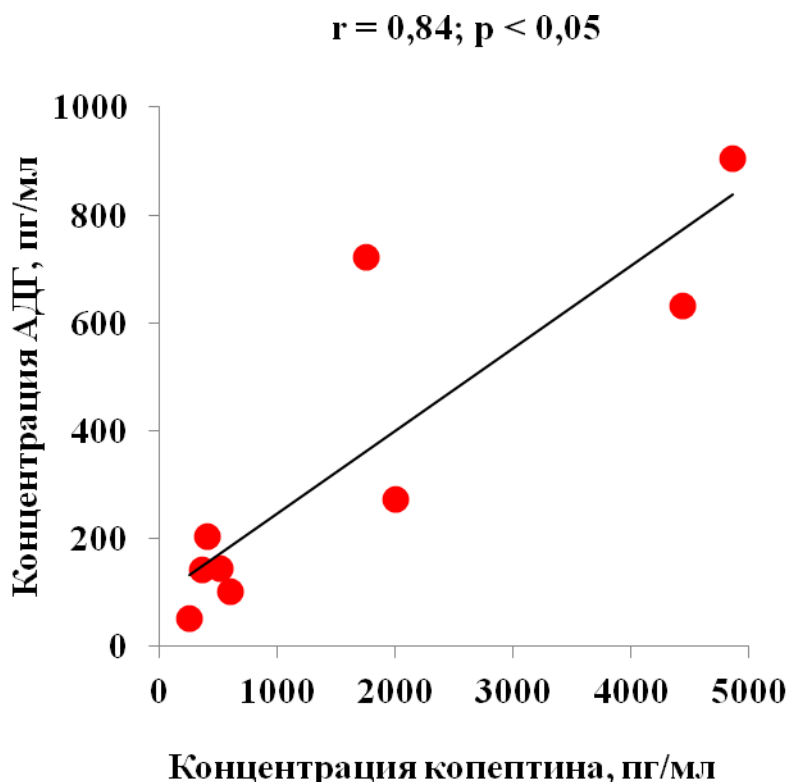


Рисунок 17 – Соотношение между концентрацией вазопрессина (пг/мл) и копептина (пг/мл) у пациентов с ВП, осложненной SIADH, при водной нагрузке

Примечание: Ось ординат – концентрация вазопрессина в пробах мочи, пг/мл. Ось абсцисс – концентрация копептина в пробах мочи, пг/мл.

**Клинический случай:** Пациент Д. Возраст: 7 лет 10 мес. (05.05.2011). Находилась на лечении в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Диагноз основной:** Внебольничная левосторонняя нижнедолевая пневмония, тяжёлое течение.

**Осложнения:** дыхательная недостаточность 2-3 степени. Левосторонний экссудативный плеврит. Фиброторакс слева.

**Сопутствующий:** Анемия легкой степени тяжести. Бронхиальная астма atopическая, лёгкое персистирующее течение, ремиссия. Аллергический ринит, вне обострения.

**Анамнез болезни:** Заболела остро, отмечалась лихорадка до 39,7, тахипноэ, кашель, боль в левой половине грудной клетки. Осмотрена участковым педиатром, диагноз: ОРВИ, острый фарингит, лечение симптоматическое. В динамике ухудшение состояния - вялость, слабость, нарастание одышки, госпитализирована в ОАРИТ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, диагноз: Левосторонняя нижнедолевая пневмония, осложненная экссудативным плевритом.

**Особенности анамнеза жизни:** Беременность 1, без особенностей. Роды 1, самостоятельные. Вес при рождении - 2700 грамм, длина тела при рождении 56 сантиметров. БЦЖ в род.доме. Со второй недели жизни – искусственное вскармливание. Вакцинация по календарю. Росла и развивалась по возрасту. После поступления в детский сад (3 года жизни), частые острые обструктивные бронхиты. Бронхиальная астма диагностирована в 6 лет, обследована, выявлена сенсibilизация к кошке, собаке, пищевая аллергия (греча). Детские инфекции – ветряная оспа. Наследственность отягощена: у дяди по линии матери – бронхиальная астма (эпидермальная сенсibilизация).

**Жалобы:** кашель, фебрильная температура, снижение аппетита, отказ от питья, вялость, слабость.

**Объективный статус:** Т тела 38.7, ЧСС = 138 ударов в минуту, ЧДД = 36 ударов в минуту, SatO<sub>2</sub> - 98 % по пульсоксиметру. Вес = 30 килограмм. Рост = 130 сантиметров. Состояние тяжелое, обусловленное фебрильной лихорадкой, дыхательной недостаточностью 2 степени, самочувствие нарушено – вялая, сниженный аппетит, пьет недостаточно, вынужденное положение. Телосложение правильное, гармоничное, пониженного питания. Кожные покровы сухие, смуглые, без инфекционной сыпи. Периферические отеки нет. Слизистые розовые, чистые, влажные. Катаральные явления сухой поверхностный кашель. Зев гиперемирован умеренно. Периферические лимфоузлы не увеличены, безболезненные. Язык обложен белым налетом. Грудная клетка правильной

формы. Одышка смешанная. Перкуссия притупление в нижних отделах слева по передней и задней поверхности. Дыхание проводится неравномерно, резко ослаблено по передней поверхности слева, по задней поверхности - бронхиальное. Хрипы в нижних отделах слева - шум трения плевры. Тоны сердца звучные. Живот мягкий, безболезненный при пальпации во всех отделах. Печень, селезенка не увеличены. Стул оформленный. Диурез снижен.

Выполнено УЗИ плевральных полостей - в левой половине грудной клетки определяется свободная жидкость до угла лопатки. Толщина слоя 7 см, на рентгенограмме органов грудной полости слева имеется снижение прозрачности по всем полям зрения, более выражено в нижних отделах, за счет инфильтративных изменений. Выполнен торакоцентез, дренирование плевральной полости слева, получен гнойное содержимое 520 мл.

### **Результаты лабораторного обследования:**

#### **Клинический анализ крови:**

RBC	HGB	WBC 10 <sup>*9</sup>	PLT	п/я	с/я	лф	мон	эоз	баз	миелоциты	СОЭ
10 <sup>*12</sup>	г/л		10 <sup>*9</sup>	%							мм/ ч
4.07	102	19.7	415	83	12	3.8	-	-	-	-	42

#### **Биохимический анализ крови:**

АЛТ 2.7 – ед/л, АСТ 15.7 – ед/л, ОБ – 53.1 г/л, Билирубин общий – 7.85 ммоль/л, Глюкоза – 3.34 ммоль/л, K<sup>+</sup> – 3.47 ммоль/л, Na<sup>+</sup> – 137 ммоль/л, Ca<sup>2+</sup> – 1,03 ммоль/л, Амилаза – 34.8 ед/л, СРБ – 294.1 мг/л, Креатинин – 38.7 мкмоль/л, Мочевина – 1.1 ммоль/л, Альбумин – 45.6 г/л.

#### **ИФА крови:**

*Chlamydomphila pneumoniae* IgM - положительный

#### **Иммунология:**

#### **Клинический анализ мочи:**

pH- 6, удельный вес – 1017, цвет желтый, мутная, белка, сахара, ацетона нет, лейкоциты 6 в п/зр., эпителий плоский 0-1 в п/зрения, эритроциты 1 в п/зрения.

**Исследование плевральной жидкости:** Белок 35.0 г/л, цвет: серая, прозрачность: мутная. Лейкоциты не густо покрывают все поля зрения.

*Эритроциты 2-4 в поле зрения, бактерии – умеренное количество. В окрашенном препарате по Романовскому – Гинзе: нейтрофилы 85%, лимфоциты – 5%, макрофаги – 10%. Значительная часть клеток разрушена, не подлежат идентификации.*

***Посев гноя из плевральной полости: Escherichia coli – значительное количество.***  
***Проведенное лечение:*** Увлажненный  $O_2$  через носовые канюли, Инфузионная терапия глюкозо – солевыми растворами, Бакперазон, Амикацин, Инванз, Ванкомицин, Пентаглобин, муколитическая терапия, симптоматическая терапия.

***На фоне лечения – отмечалась положительная динамика.***

Заключение: у пациентки с внебольничной пневмонией тяжелой степени, осложненной экссудативным плевритом, на основании клинико-лабораторного обследования диагностирован SIADH. Она была в палате интенсивной терапии и по показаниям ежедневно контролировали параметры крови, включая концентрацию электролитов, СРБ. Обследование показало, что в начале заболевания концентрация натрия в сыворотке крови достигала до 132 ммоль/л, а показатели СРБ росли до 294 мг/л, в процессе лечения концентрация  $Na^+$  в сыворотке крови восстановилась до нормы, а концентрация в сыворотке крови СРБ снижалась (рисунки 18, 19).



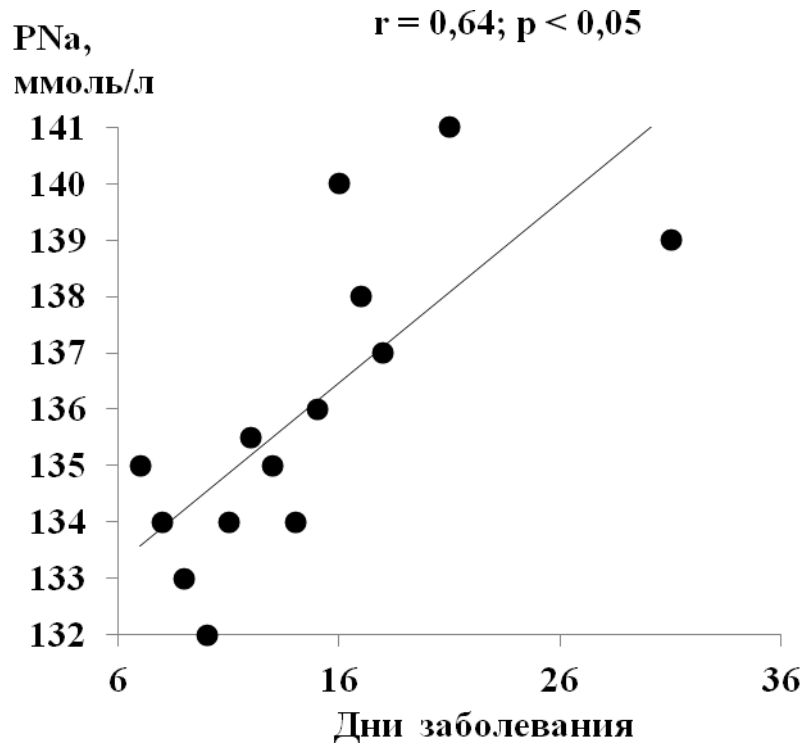


Рисунок 18 – Динамика показателей концентрации натрия ( $P_{Na}$ , ммоль/л) в сыворотке крови в динамике заболевания

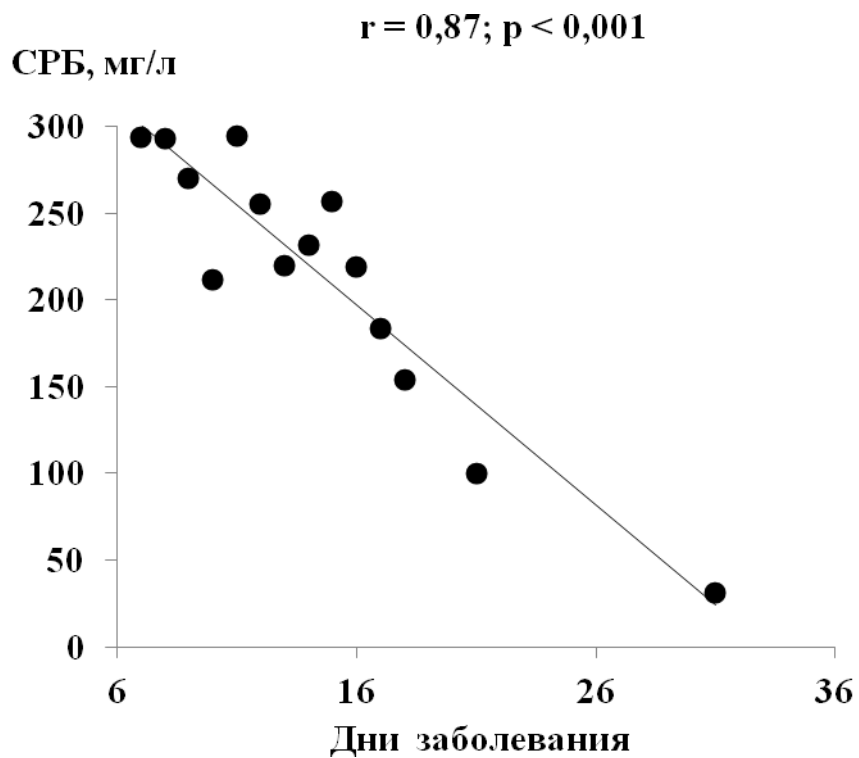


Рисунок 19 – Динамика показателей концентрации СРБ, мг/л в сыворотке крови в динамике заболевания

При тяжелом течении ВП у детей наблюдается SIADH. При тесте с водной нагрузкой в объеме 10 мл/кг почка у пациентов с SIADH не экскретирует осмотически свободную воду. Выявлена высокая корреляция между экскрецией вазопрессина и копептина в пробах мочи у пациентов с SIADH.

### **3.5 Особенности ионного состава и осмоляльности сыворотки крови у детей обследуемых групп**

В клинической практике обычно рассматриваются отдельно концентрация каждого катиона в сыворотке крови. В тоже время соотношение между катионами играет ключевую роль в организме при биоэлектрических процессах, зависящих от соотношения концентрации катионов во внеклеточной жидкости –  $\text{Na}^+$ , как доминантного, а  $\text{K}^+$  как основного внутриклеточного катиона [20].

В настоящей работе концентрация катионов натрия и калия в сыворотке крови у пациентов обследуемых групп соответствуют стандартам нормы у детей (таблица 5, 6), нами было исследовано  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке крови, как ключевой параметр, влияющий на мембранный потенциал клеток.

Расчет отношения концентраций катионов ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) в сыворотке крови у исследуемых групп показал, что  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение у здоровых детей составляет 30 [29; 31], у пациентов с МВ, ПЦД, ВП оно было статистически значимо выше (таблица 10, рисунок 20). При сравнении  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношения между группами с хронической патологией, такими как МВ и ПЦД, различия выявлено не было. Тогда был поставлен вопрос, зависит ли данное отношение от обострения хронического заболевания или от остроты и тяжести течения заболевания. При анализе пациентов с ВП с тяжелым течением,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение у них было резко повышенным (таблица 10, рисунок 20) и статистически значимо отличалось от обследуемых групп,  $*p < 0,05$ .

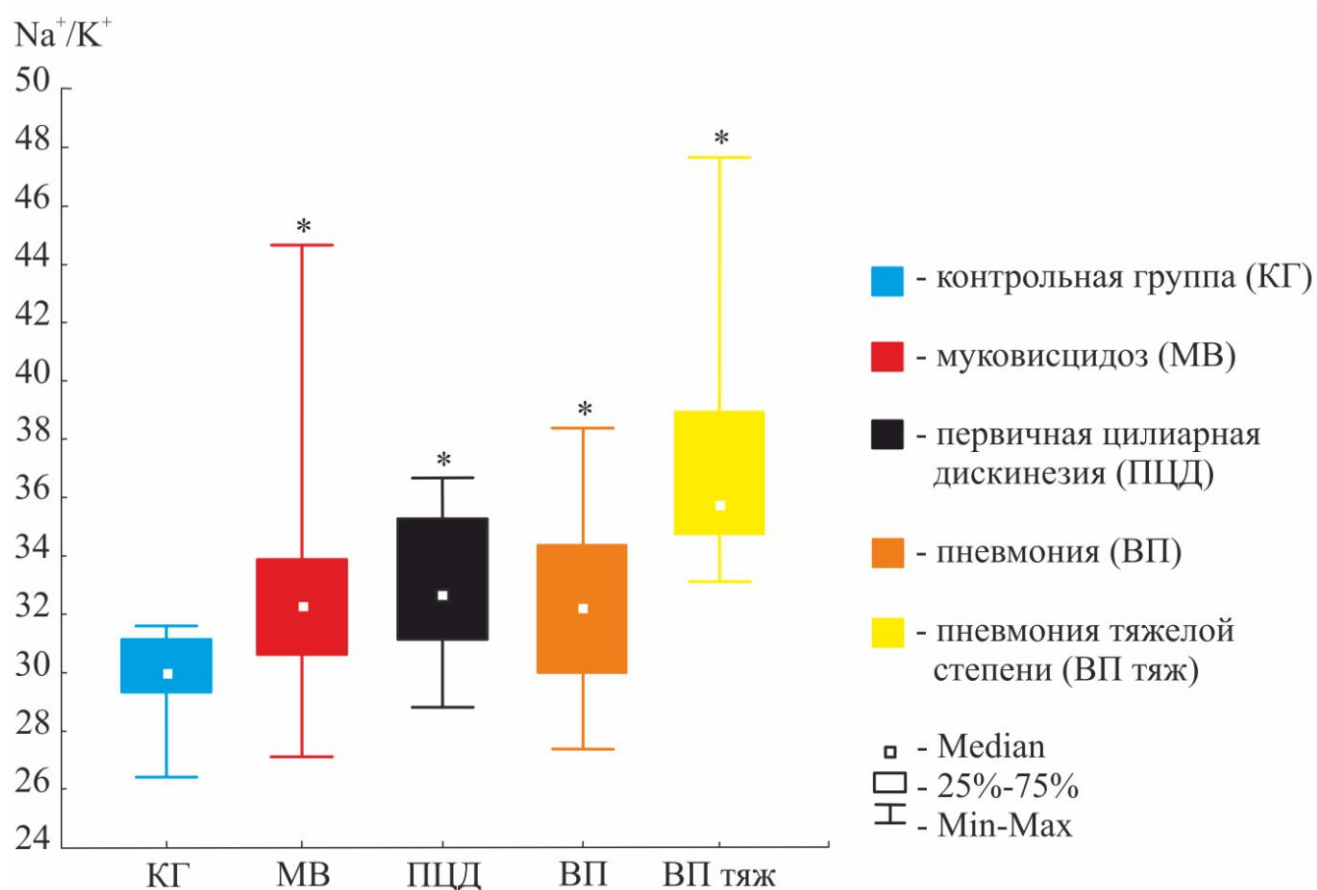


Рисунок 20 – Соотношение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в сыворотке крови у обследованных пациентов

Примечание: ось ординат –  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в сыворотке крови; КГ – контрольная группа, здоровые дети ПЦД – первичная цилиарная дискинезия, МВ – муковисцидоз, ВП – внебольничная пневмония нетяжелой степени, ВПтяж – внебольничная пневмония тяжелой степени. Данные приведены в Ме [Q1; Q3].\* $p < 0,05$  к группе контроля, здоровые дети.

Таблица 10 –  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  - коэффициент у исследуемых групп, Ме [Q1; Q3]

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

Примечание: КГ – контрольная группа, ПЦД – первичная цилиарная дискинезия, МВ – муковисцидоз, ВП – внебольничная пневмония нетяжелое

течение, ВПтяж – внебольничная пневмония тяжелой степени; \* $p < 0.05$  к группе контроля, здоровые дети.  $\beta p < 0.05$  к ВП тяжелой степени.

Очевидно, что  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение зависит от концентрации каждого из этих катионов в пробе у каждого обследуемого ребенка. Для ответа на вопрос о том, какой из катионов определяет сдвиг соотношения при исследованных формах патологии  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение было сопоставлено с концентрацией в сыворотке крови у тех же обследованных с концентрацией  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$ . Оказалось, что определяющим фактором в сдвиге соотношения служит изменение концентрации  $\text{K}^+$  (рисунок 21), а не  $\text{Na}^+$  в сыворотке крови (рисунок 22).

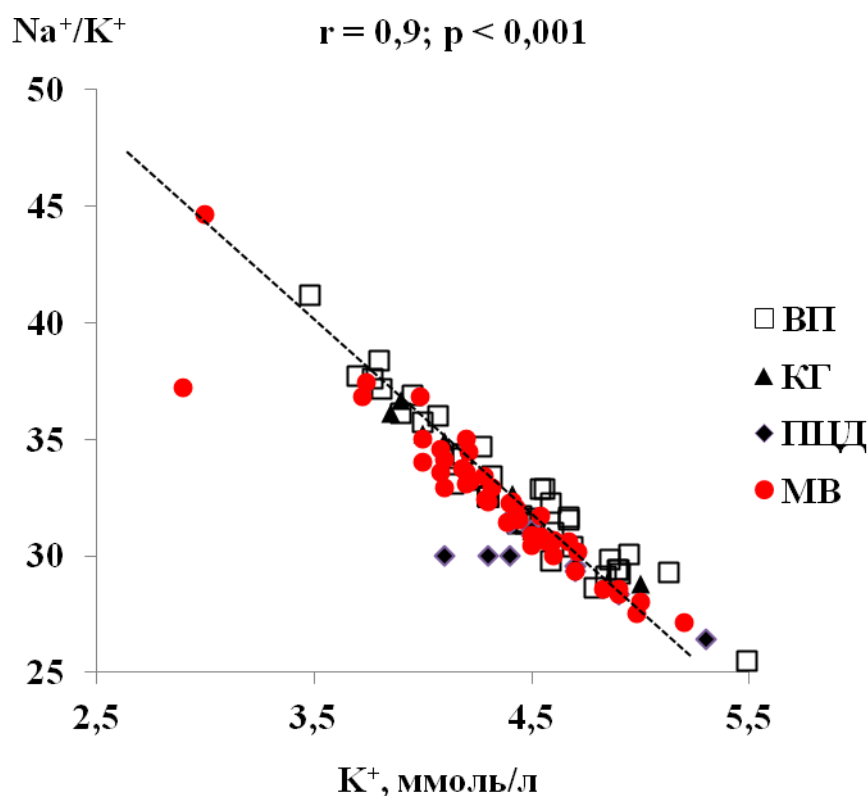


Рисунок 21 – Зависимость между соотношением  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  и концентрацией  $\text{K}^+$  в сыворотке у обследуемых детей

Примечание: КГ – контрольная группа, здоровые дети, ПЦД – первичная цилиарная дискинезия, МВ – муковисцидоз, ВП – внебольничная пневмония.

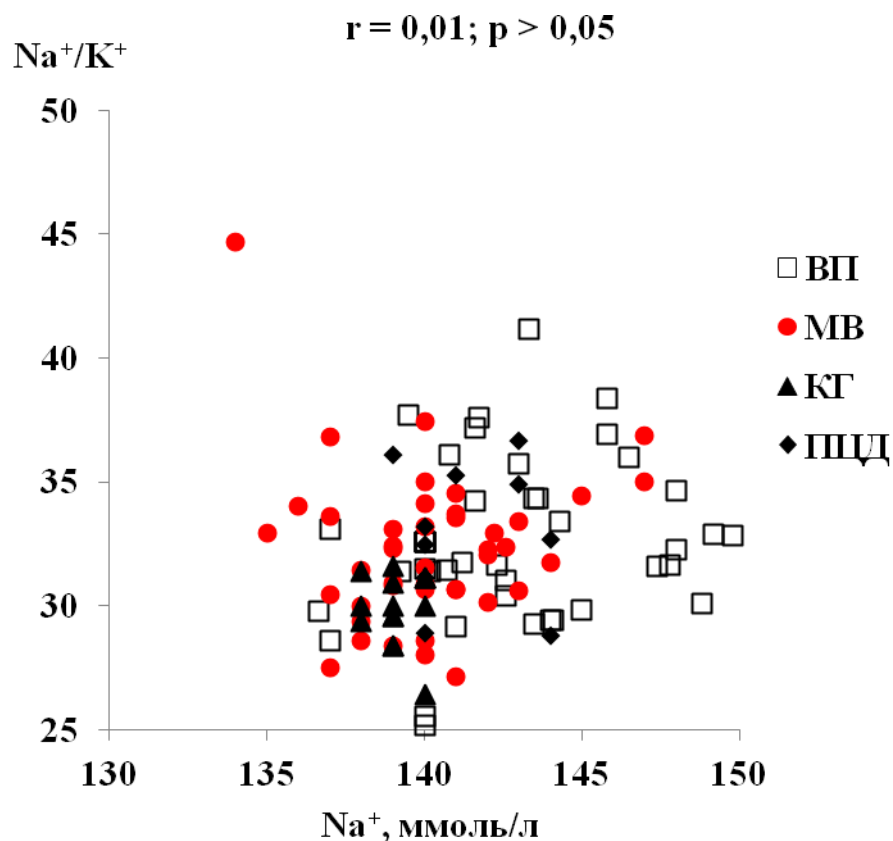


Рисунок 22 – Зависимость между соотношением  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  и концентрацией  $\text{Na}^+$  в сыворотке крови у обследуемых детей

Примечание: КГ – контрольная группа, ПЦД – первичная цилиарная дискинезия, МВ – муковисцидоз, ВП – внебольничная пневмония.

Приведенные данные показали, что имеются однонаправленное изменение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношения, его повышение при разных формах заболеваний. Диагностическое значение  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коэффициента может клинически зависеть от сдвига каждого из этих компонентов, включая компенсаторной сдвиг концентрации катионов при изменении концентрации парного иона.

### 3.6 Методы терапевтической коррекции нарушения водно-солевого обмена при муковисцидозе у детей

Нарушение водно-солевого гомеостаза особенно остро проявляется при сочетанной патологии, например МВ с синдромом псевдо-Барттера, когда прослеживается нарушение концентрации катионов в сыворотке крови [132; 149].

Синдром псевдо-Барттера является редким проявлением МВ и часто может быть первичным проявлением у этих пациентов, однако из-за значительного разнообразия клинических симптомов (рвота, диарея, адинамия, головная боль, потеря аппетита), его часто ошибочно принимают за синдром интоксикации или синдром Барттера. Основные лабораторные изменения – гипонатриемия, гипохлоремия, гипокалиемия и метаболический алкалоз. В отличие от синдрома Барттера, выведение хлоридов с мочой низкое. Это состояние вызвано чрезмерной потерей натрия и хлоридов с потом, и может развиваться у пациентов с МВ при недостаточном потреблении натрия. Младенцы особенно подвержены риску развития данного синдрома, потому что содержание соли в грудном молоке или детской смеси может быть недостаточным, и требуется дополнительный прием натрия. Состояние может также развиваться у детей старшего возраста или взрослых на фоне физической нагрузки, снижения потребления жидкости [100; 149].

Клинический случай: пациент был обследован дважды в возрасте 3 месяцев и 3 лет.

*Пациент М. Возраст: 3 мес. (10.02.2017) находился на лечении в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.*

**Диагноз основной:** Муковисцидоз, смешанная форма, обострение.

**Генотип:** F508del/F 508del (гомозигота)

**Осложнение:** Псевдо-Барттер синдром

**Анамнез болезни:** Начало болезни с рвоты съеденной пищей, отказ от еды, далее уменьшился диурез, появился редкий сухой кашель. Потеря в весе до 300 грамм, состояние пациента ухудшилось, госпитализирован в ОАРИТ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Особенности анамнеза жизни:** Ребенок от 2-й беременности на фоне анемии 1 степени тяжести, острого гастроэнтерита – 2 раза. Роды 2-е срочные, самостоятельные. Вес при рождении 2850 грамм, рост 50 сантиметров. Закричал сразу. Выписан из роддома на 6-е сутки. В роддоме гипербилирубинемия, получал фототерапию 2-е суток. Ребенок обследован в медико-генетическом центре в связи с повышенными показателями ИРТ (неонатальный скрининг на муковисцидоз). Неонатальный скрининг – ИРТ-1 – 115 нг/мл (норма до 70 нг/мл), ИРТ-2 – 164 нг/мл (норма до 70 нг/мл). Потовая проба – 121 ммоль/л (положительная), эластаза-1 кала 15 мкг/г (норма 200 мкг/г). Молекулярно – генетическое обследование – Генотип F508del/F508del (гомозигота). Старший ребенок (девочка 1 год 10 мес.) здорова. За последний месяц прибавил 650 грамм, + 3 сантиметра. Ребенок на грудном вскармливании. Наследственность отягощена: мама – синдром мальабсорбции, лактазная недостаточность. Туберкулезный анамнез: контакт с туберкулезными больными отрицает.

**Жалобы на момент поступления:** многократная рвота, снижение аппетита, вялость, редкий кашель.

**Объективный осмотр при поступлении:** Состояние тяжелое, тяжесть состояния была обусловлена острым развитием симптоматики, включающей многократную рвоту, снижение аппетита, вялость, в анализе крови выявлен метаболический алкалоз, наблюдалась гипонатриемия и гипокалиемия, высокое  $Na^+/K^+$  отношение. Не лихорадит. Самочувствие значительно страдает: вялый,

негативно реагирует на осмотр. Телосложение правильное. Большой родничок нормотоничен, размерами 2х2 см. Кожные покровы бледные, чистые, инфекционной сыпи нет. Симптом «белого» пятна до 2 сек. Слизистые влажные, обычной окраски, чистые. Зев не гиперемирован. Язык не обложен. Грудная клетка правильной формы. Отмечается участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания: втяжением межреберных промежутков. Дыхание жесткое, проводится по всем полям; одышка экспираторного характера. При аускультации – диффузные сухие свистящие хрипы, ЧДД 60 в минуту. SatO<sub>2</sub> по пульсоксиметру 92-93% Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС 145 в минуту. Живот мягкий, подвздут, доступен глубокой пальпации во всех отделах живота, безболезненный,. Печень, селезенка не увеличены. Стул кашицеобразный до 5 раз в день. Диурез достаточный.

#### **Проведенное лабораторное обследование:**

##### **Клинический анализ крови:**

RBC	HGB	WBC 10 <sup>*9</sup>	PLT	п/я	с/я	лф	мон	эоз	баз	СОЭ
10 <sup>*12</sup>	г/л		10 <sup>*9</sup>	%						мм/ч
4,04	102	10,5	333	-	42	49	7	1	-	2

##### **Кислотно-основное состояние крови:**

Дата	pH	pCO <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub>	BEect	HCO <sup>3-</sup>	TCO <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub> %	A	A- Ado2	a/A	RI
24.05	7,561	57,6	43,6	29,8	52,1	53,9	83,5	78,5	34,9	0,6	0,8
25.05	7,583	61,9	49,3	37,0	59,0	60,9	87,9	74,6	25,3	0,7	0,5
Дата	pH	pCO <sub>2</sub>	pO <sub>2</sub>	Beect	HCO <sup>3-</sup>	TCO <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub> %	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>2+</sup>
26.05	7,541	55,8	52,1	22,6	46,0	55,8	89,2	3,2	122	71	1,14
27.05	7,443	46,3	32,7	6,9	30,0	46,3	62,0	3,2	136	98	1,29
28.05	7,526	23,9	202	-2,7	22,8	23,9	100,4	4,1	140	106	1,13

##### **Биохимический анализ крови на реанимации:**

АЛТ 16,0 – ед/л, АСТ – 43,8 ед/л, ОБ – 71,1 г/л, Билирубин общий – 23,3 ммоль/л, Глюкоза – 6,94 ммоль/л, K<sup>+</sup> – 2,9 ммоль/л, Na<sup>+</sup> – 108 ммоль/л, Cl<sup>-</sup> – 48 ммоль/л,



Амилаза – 163,9 ед/л, СРБ – 4,9 мг/л, Креатинин – 25 мкмоль/л, Мочевина – 0,8 ммоль/л, Альбумин – 50,6 г/л.

**Общий анализ мочи:**

рН	Уд. вес	сахар	белок	Лейкоциты	Эритроциты	Эпителиальные клетки	цилиндры
7	1005	++	+	4-5	5-7	+++	Зернистые 0-1

**Проведенное инструментальное обследование:**

**ЭКГ:** Синусовая аритмия, ЧСС 171-154 в мин. Неполная блокада правой ножки п. Гиса. Нарушения процессов реполяризации.

**Ультразвуковое исследование брюшной полости от и почек:** Отмечается повышенная эхогенность почек. Данных за пилоростеноз не получено. УЗ-признаки добавочной доли селезенки.

**Проведенное лечение:** инфузионная терапия – Sol. KCl 4%, Sol. Glucosae 5%, Sol. Panangini, Sol. CaCl<sub>2</sub> 10%, Sol. Reamberini, Sol. Ringeri, антибактериальная терапия – Цефтриаксон. Ингаляции с Беродуалом и Пульмикортом, Верошпирон, Креон, Урсофальк, Линекс.

За время нахождения в стационаре, стабилизация состояния – прекращение рвот, ребенок питается самостоятельно (не через назогастральный зонд), в весе прибавляет + 260г (за 5 дней), восстановление рН = 7,44, K<sup>+</sup> до 4,6 ммоль/л, Na<sup>+</sup> до 145 ммоль/л, Cl<sup>-</sup> = 93 ммоль/л.

**Пациент выписан под наблюдение педиатра, пульмонолога по месту жительства.**

**Заключение:** Представленный клинический случай пациент с диагнозом Муковисцидоз и синдромом псевдо-Барттера показывает, что для купирования острой ситуации ребенку была начата инфузионная терапия с 4% KCl, после купирования рвоты был предложен солевой раствор через рот, содержащий хлориды калия и натрия (Humana Electrolyt + 4% KCl). Несмотря на горький вкус, пациент стал жадно пить этот раствор. Такая реакция продолжалась несколько дней, пока не восстановилась концентрация одновалентных ионов в крови (рисунок 23).

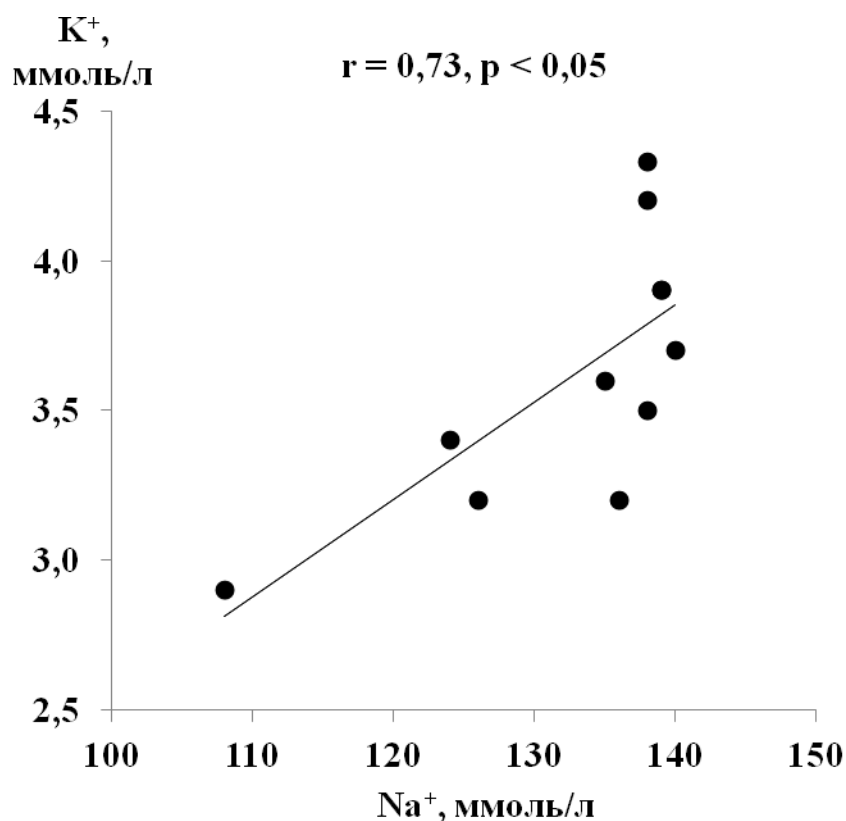


Рисунок 23 – Зависимость между концентрацией  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в сыворотке крови в динамике лечения остро развившегося синдрома псевдо-Барттера у пациента (возраст 3 месяца)

Примечание: Ось ординат – концентрация калия в сыворотке крови, ось абсцисс – концентрация натрия в сыворотке крови.

Обострения синдрома псевдо - Барттера, также прослеживалось у данного пациента в возрасте 3-х лет, основные симптомы были снижение аппетита, умеренная вялость, однократная рвота. Пациенту сразу был предложен солевой раствор через рот, содержащий хлориды калия и натрия (Humana Electrolyt + 4% KCl), который он также пил, пока не восстановилась концентрация натрия и калия в крови (рисунок 24).

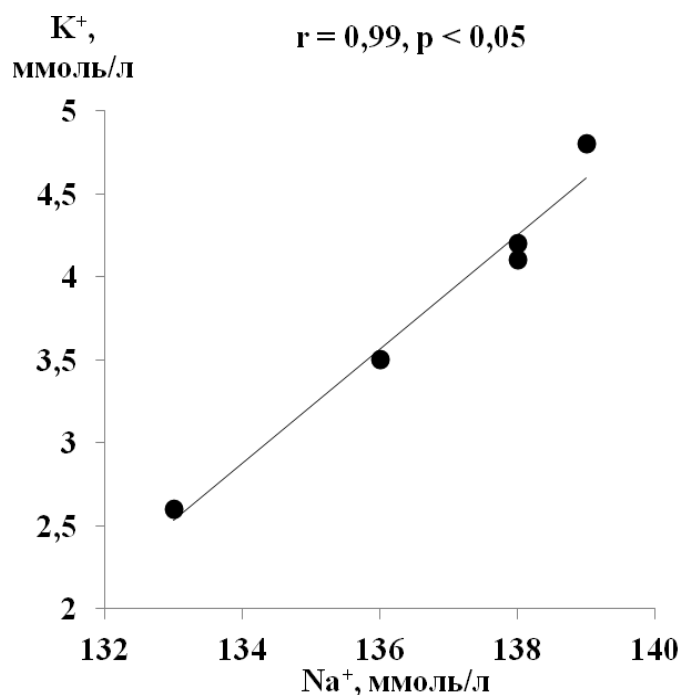


Рисунок 24 – Зависимость между концентрацией  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в сыворотке крови в динамике лечения остро развившегося синдрома псевдо-Барттера у пациента (возраст 3 года)

Примечание: Ось ординат – концентрация калия в сыворотке крови, ось абсцисс – концентрация натрия в сыворотке крови.

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, что может иметь диагностическое значение. Использование этого показателя, как симптома предвестника, позволит начать лечение на более ранних стадиях развития болезни.

Таким образом, выявлено новое звено функциональной организации системы регуляции водно-солевого обмена, которое выражается в обостренной чувствительности системы регуляции солевого аппетита, обеспечивающего комплекс физиологических реакций по стабилизации объема клеток при корректирующем введении солей этих металлов для нормализации концентрации ионов в околоклеточной жидкости.

## Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мутации гена 7 хромосомы, который кодирует структуру и функцию белка CFTR, приводят к нарушению транспорта электролитов (главным образом, хлоридов), что изменяет электролитный состав жидкостей, способствует сгущению секрета различных желез, что вызывает чрезмерное повышение вязкости. В результате наступает нарушение экзокринной функции желудочно-кишечного тракта, верхних и нижних отделов дыхательного тракта, репродуктивной системы у пациентов с МВ [4].

В литературе нет верифицированных исследований, как генетический дефект CFTR отражается на состоянии водно-солевого обмена и функции почек у детей с МВ, учитывая, что CFTR экспрессируется во всех сегментах нефрона. В настоящем исследовании показано, что осмоляльность и основные ионы (натрий, калий, хлор, кальций, магний) сыворотки крови у пациентов с МВ соответствуют стандартным значениям нормы. Осмоляльность сыворотки крови человека является одним из наиболее тщательно контролируемых физико-химических параметров [19]. С рождения и на протяжении всей жизни человека оно составляет 285–290 мОсм/кг H<sub>2</sub>O [12].

Все обследованные пациенты с МВ имели смешанную форму заболевания, клиническая картина была представлена хронической бронхолегочной патологией и хронической недостаточностью поджелудочной железы. Мутация F508del была выявлена у 66% пациентов, у 46% пациентов с МВ были выражены симптомы нарушения функции почки: увеличение клиренса креатинина, гипостенурия и изменения 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 (*Pseudomonas aeruginosa*). Вероятно, большая часть симптомов нарушения функции почки носит вторичный характер и является проявлением тубулоинтерстициального

процесса и нефротоксичности, обусловленной приемом антибиотиков из группы аминогликозидов [51].

По анализу литературы нарушение функционального состояния почек у детей при МВ включает увеличения СКФ [11; 196], нарушение осмотического концентрирования и разведения мочи [4], нарушение оксалатно-кальциевого обмена [167]. Проанализируем в этой связи адекватность утверждений о существовании некоторых патологических изменений в почке (увеличение СКФ, нарушение осмотического концентрирования и разведения мочи), организме у детей с МВ.

### *Скорость клубочковой фильтрации*

В литературе имеются данные об увеличении СКФ, рассчитанной с помощью клиренса креатинина, у пациентов с МВ [10; 11; 36; 58; 196]. В действительности эти данные указывают на высокое значение расчетной величины клиренса креатинина. В нашей работе была поставлена задача, является ли в данном случае расчет по этой формуле истинным увеличением СКФ или требуется иной подход к оценке истинного значения исходного этапа мочеобразования, связанного с ультрафильтрацией жидкости в клубочках. В формулу по измерению СКФ входят три показателя – диурез, концентрация креатинина в моче и концентрация креатинина в сыворотке крови. Концентрация креатинина в крови зависит от мышечной массы, метаболизм которой служит постоянным источником креатинина, поступающим в кровь. Дети с МВ имеют меньшую мышечную массу, чем их здоровые сверстники, из-за синдрома мальабсорбции и наличия хронической, рецидивирующей инфекции респираторного тракта [6]. Это вызывает у них снижение концентрации креатинина в сыворотке крови, что и было найдено у обследованных нами пациентов с МВ. Диурез измерялся точно, строго регистрировался объем жидкости и время, в течение которого образовывалась данная проба мочи. Все расчеты проводились на основе  $1.73 \text{ м}^2$  площади поверхности тела. Очевидно, что сниженные величины концентрации креатинина сыворотки крови, в формуле они

являются знаменателем, приводят к завышению расчетной величины клиренса креатинина. Сказанное позволяет полагать, что отмечаемое в ряде работ увеличение СКФ не является свидетельством истинного ее увеличения. В нашей работе проведено сопоставление расчетного значения клиренса креатинина у обследованных детей с МВ с должным значением, исходя из их возраста, роста и массы тела. Оказалось, что СКФ при МВ не отличается от детей данной возрастной группы. Для оценки СКФ у пациентов с МВ, в настоящем исследовании, был произведен расчет СКФ по известной принятой в педиатрии формуле Шварца. В этом случае полученные нами данные находились в границах нормы, в том числе у детей с МВ.

#### *Осмотическое концентрирование и разведение мочи*

Почка здорового человека способна выделять мочу с высокой концентрацией осмотически активных веществ, и она достигает 1400 мосм/кг  $H_2O$  [3; 17; 142]. В условиях патологии эта функция нарушается и развивается изостенурия или гипостенурия. Современная диагностика может быть возможна только с использованием осмометрии, поскольку при применении урометра и определении удельного веса может быть ложная оценка в этом случае удельный вес мочи обусловлен протеинурией, а не повышением концентрации осмотических веществ.

В дифференциальной диагностике при наличии гиперстенурии нужно выяснить уровень секреции вазопрессина у ребенка, реакцию почек на потребление воды. В нашей работе эти исследования были выполнены, что потребовало разработки нового варианта пробы с водной нагрузкой и ответа на вопрос об адекватности секреции антидиуретического гормона. Известно, что при патологии легких в некоторых случаях выявляется синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона [193]. Основные симптомы проявления данного синдрома: сочетание высокой осмоляльности проб мочи (гиперстенурии), при низкой осмоляльности сыворотки крови. 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.

Для дифференциальной диагностики гиперстенурии может быть использован разработанный в данной работе вариант пробы с водной нагрузкой, при нормальной работе системы осморегуляции это приведет к снижению осмоляльности мочи. Осморегулирующий рефлекс у детей после питья воды снизит продукцию и секрецию нейрогипофизом вазопрессина, при SIADH гормон секретируется в легких и не произойдет снижение его секреции. Подтверждающим моментом стало измерение в настоящем исследовании концентрации вазопрессина и копептина в моче у пациентов с ВП с тяжелым течением и SIADH. В норме секреция вазопрессина в кровь из нейрогипофиза сопровождается поступлением и копептина. Сопоставление этих показателей особенно существенно у обследуемых пациентов, поскольку связано с избыточной секрецией вазопрессина при SIADH при патологии легких. Возникло предположение, что необходимо сопоставить эти параметры у обследованных пациентов при функциональной пробе с водной нагрузкой. Сравнение концентрации вазопрессина и копептина в одних и тех же пробах мочи у детей с SIADH при ВП после водной нагрузки показало высокую корреляцию между этими показателями, что определенно важно для диагностики синдрома неадекватной секреции вазопрессина, так как в отличие от вазопрессина, копептин остается стабильным в крови в течение нескольких суток и поэтому более доступен для определения в педиатрической практике.

#### *Особенности осморегулирующей функции почек у пациентов с муковисцидозом*

Почки имеют особое значение в осморегуляции, их осморегуляторная функция постепенно формируется в раннем постнатальном онтогенезе [197]. В настоящем исследовании было проведено изучение осморегулирующей функции почек, касающееся ее способности к образованию и выделению осмотически

свободной воды, способность к осмотическому концентрированию. Эта функция почек непрестанно вовлекается в поддержание гомеостаза, она могла быть изменена, нарушена при МВ. Ее изучение возможно только с применением нагрузочной пробы с питьем воды. Эта проба была впервые исследована в начале XX века у взрослых, имеется ряд модификаций, но требовалась специальная проба, которая могла быть применена у детей. У взрослых требуется выпить воду в объеме 20 мл на кг массы тела. Это неосуществимо у детей. Поэтому в настоящем исследовании была проанализирована новая версия теста водной нагрузки специально для детей с использованием вдвое меньшего объема воды, и главное установлены критерии ее эффективности.

Для оценки функционального изменения в организме, индивидуального изменения водно-солевого обмена у пациентов с МВ, ВП, здоровых детей использовалась нагрузочная проба с объемом – 10 мл на кг массы тела. Использование модифицированной пробы с водной нагрузкой и клиренсовых исследований позволили выявить ряд особенностей реакции систем регуляции водно-солевого обмена при МВ.

Полученные результаты демонстрируют, что у пациентов с МВ сохранена способность почки к осмотическому концентрированию мочи, о чем свидетельствует высокая концентрация осмоляльности проб мочи, а также отрицательные значения клиренса осмотически свободной воды. Расчет клиренса почкой осмотически свободной воды состоит в том, чтобы определить, сколько реабсорбирует или экскретирует почка воды без растворенных веществ. Если осмоляльность пробы мочи соответствует осмоляльности сыворотки крови, то проба мочи является изоосмотичной, в ней нет осмотически свободной воды. При осмоляльности мочи ниже осмоляльности сыворотки крови, почка выделяет гипотоническую мочу, которая содержит больше осмотически свободной воды. В том случае, когда почка экскретирует гипертоническую мочу, происходит реабсорбция осмотически свободной воды, значения клиренса осмотически свободной воды принимают отрицательные значения, такое состояние может наблюдаться при обезвоживании.



У детей с МВ клиренс натрия и клиренс осмотически активных веществ выше в контрольном периоде (после ночного сна) и после пробы с водной нагрузкой по сравнению со здоровыми детьми. Клиренс натрия характеризует участие почек в волюморегуляции, позволяет оценить тенденцию сдвига систем регуляции по стабилизации объема внеклеточной жидкости [19]. Клиренс осмотически активных веществ характеризует объем сыворотки крови, очищенной от растворенных веществ, выведенных из организма. Исходя из полученных данных, можно предположить, что у пациентов с МВ стабилизация объема внеклеточной жидкости направлена на удаление избытка жидкости.

Для оценки роли почек в регуляции объема клеток был рассчитан параметр клиренса свободной воды от натрия [19]. Это значение позволяет нам оценить количество воды, которое можно использовать для регулирования объема клеток. При изменении объема любой клетки, особенно участвующей в регуляции гомеостаза воды и ионов, необходимо ускорить или замедлить выведение почками воды, не содержащей ионов натрия. Это приведет к нормализации концентрации натрия во внеклеточной жидкости и тем самым создаст условия для восстановления клеточного объема. В контрольном периоде только пациенты с МВ показали высокую корреляцию между клиренсом осмотически свободной воды и клиренсом свободной от натрия воды. После питья воды при водной пробе у пациентов всех обследуемых групп зависимость между изученными клиренсами стала подобна той, которая была выявлена при МВ на фоне водной депривации. Таким образом, сопоставление индивидуальных значений этих показателей выявляет высокую корреляцию между выделением почкой воды, которая обеспечивает клеточную осморегуляцию, и теми функциями почек, которые обуславливают восстановление количества внеклеточной жидкости. Для оценки селективности клиренса свободной от ионов натрия воды, нами был проведен расчет свободной от ионов калия воды. В случае ионов калия не было найдено закономерных изменений, следовательно, отличия касаются клиренса воды, свободной от ионов натрия во внеклеточной жидкости, но не воды, свободной от ионов калия.

Показана информативность нового варианта теста с водной нагрузкой у обследуемых детей с использованием вдвое меньшего объема воды - 10 мл /кг массы тела. Критериями оценки этого теста служит изменение реабсорбции осмотически свободной воды, разница между осмоляльностью мочи в контрольном периоде и величиной ее снижения после водной нагрузки. Этот подход может быть использован для оценки состояния осморегуляции в педиатрической нефрологической практике.

### *$Na^+/K^+$ коэффициент сыворотки крови*

Клиническая картина одной формы патологии легких может отличаться у каждого пациента, в то же время, есть общие закономерности течения болезни, которые характеризуются сходством симптомов. Внедрение методов генетических исследований во врачебную практику позволило установить природу ряда форм патологии, связанных с мутацией генов. Представлял большой интерес выяснить, имеется ли общее проявления патологического процесса в разнородной клинической группе орфанных, генетических заболеваний легких (МВ, ПЦД), а также при остром заболевании легких (ВП). Одной из общих характеристик клеток организма служит мембранный потенциал, зависящий от соотношения концентрации катионов во внеклеточной жидкости –  $Na^+$ , как доминантного, а  $K^+$  как основного внутриклеточного катиона. В клинической практике обычно оценивается концентрации каждого из катионов в сыворотке крови отдельно. В настоящем исследовании был проведен расчет соотношения концентраций катионов натрия и калия в сыворотке крови у данных пациентов. При всех формах патологии легких,  $Na^+/K^+$  соотношение было выше, чем у здоровых детей.

Очевидно, что  $Na^+/K^+$  отношение зависит от концентрации каждого из этих катионов в пробе у каждого из обследуемых пациентов. У всех пациентов  $Na^+/K^+$  коэффициент коррелировал с концентрацией  $K^+$  в сыворотке крови, что, по-видимому, говорит о роли стабилизации концентрации калия в клетке, для регуляции их объема, мембранного потенциала. 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 20). Из этого следует, что либо непрерывно поддерживается необходимый градиент концентрации этих катионов сыворотке крови и к нему устанавливается адекватная концентрация  $\text{K}^+$ , либо имеется специальный механизм стабилизации уровня  $\text{K}^+$  в сыворотке, а остальные параметры зависят от нее.

Выбор для изучения одновалентных катионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , расчет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношения, но не аналогичных зависимостей для ионов кальция и магния, был обусловлен тем, что регуляторное влияние неорганических элементов зависит от их ионизированных форм. В то же время у человека 50%  $\text{Ca}^{2+}$  и 25%  $\text{Mg}^{2+}$  находятся в связанной форме в сыворотке крови. Основное количество натрия и калия напротив в сыворотке крови представлено в виде свободных ионов. Иная ситуация наблюдается для двухвалентных катионов – концентрация кальция в сыворотке крови составляет 2.5 ммоль/л, но в виде ионов имеется только 1.15 ммоль/л, остальное количество  $\text{Ca}^{2+}$  связано с белками или низкомолекулярными органическими кислотами. Это означает, что физиологически в реакциях участвуют часть этих катионов металлов, а не общая концентрация в сыворотке крови.

Имеются состояния, при которых растет  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение, в частности синдром псевдо-Барттера, что связано с острой развивающейся патологией, при перераспределении ионов  $\text{K}^+$  между клеткой и сывороткой крови. В этом случае часть  $\text{K}^+$  смещается из сыворотки крови в клетки для восстановления их объема. Это, вероятно, наблюдается при орфанных заболеваниях (МВ, ПЦД), и приводит к небольшому повышению  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коэффициента. При остром течении заболевания и возможном нарастании отека клеток, возрастает  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение, например, в остром периоде ВП с тяжелым течением.

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  $H_2O$  и концентрация основных ионов Na 140 [138; 141], K 4.4 [4.2; 4.6], Ca 2.5 [2.3; 2.6], Mg 0.84 [0.75; 0.91], 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 сыворотки 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.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  отношение в сыворотке следует рассматривать, как существенный параметр состояния системы водно-солевого гомеостаза в клинической практике.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  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 СКОРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CFTR – белок-регулятор трансмембранной проводимости хлоридов

ENaC – эпителиальный натриевый канал

MSD1 – трансмембранный домен 1

MSD2 – трансмембранный домен 2

NBD1 – нуклеотид-связывающий домен 1

NBD2 – нуклеотид-связывающий домен 2

ORCC – хлорный канал, outwardly rectified chloride channel

ROMK-2 – калиевый канал в клетках канальца почки, участвующий в секреции ионов калия

SatO<sub>2</sub> – сатурация кислорода в крови

SIADH – синдром неадекватной секреции вазопрессина

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфат

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВП – внебольничная пневмония

ИМТ – индекс массы тела

ИРТ – иммунореактивный трипсин

КОС – кислотно-основное состояние крови

МВ – муковисцидоз

МИ – меконияльный илеус

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

МЦС – мукоцилиарная система

ОАРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОБ – общий белок

ОРВИ – острые респираторные вирусные инфекции

ПЦД – первичная цилиарная дискинезия

СОЭ – скорость оседания эритроцитов



СРБ – С-реактивный белок

УЗИ – ультразвуковое исследование

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов, А.А. Физическое развитие детей и подростков на рубеже тысячелетий / А.А. Баранов, В.Р. Кучма, Н.А. Скоблина. – М.: Научный центр здоровья детей РАМН, 2008. – 216 с.
2. Берман, Р.Э. Педиатрия по Нельсону: в 5 т.: пер. с англ. / Р.Э. Берман, Р.М. Клигман, Х.Б. Дженсон / под ред. А.А. Баранова. – М.: ООО «Рид Элсивер», 2009. – Т. 4. – С. 537–560.
3. Гайтон, А.К. Медицинская физиология / А.К. Гайтон, Дж.Э. Холл. – М.: Логосфера, 2008. – С. 385–403.
4. Капранов, Н.И. Муковисцидоз / Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская. – М.: Медпрактика-М, 2014. – 672 с.
5. Каширская, Н.Ю. Поражение системы пищеварения при муковисцидозе / Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов // Ремедиум. – 2009. – № 5. – С. 22–23.
6. Кистозный фиброз (муковисцидоз): клинические рекомендации [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Рос. Федерации; Союз педиатров России // Союз педиатров России. – Электрон. дан. – [Б. м.]. – 2020. – Режим доступа: <https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/deystvuyushchie-klinicheskie-rekomendatsii/index.php>, свободный. – Загл. с экрана.
7. Клинико-генетическая характеристика и исходы мекониевого илеуса при муковисцидозе / Е.И. Кондратьева, В.Д. Шерман, Е.Л. Амелина [и др.] // Рос вестн перинатол и педиатр. – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 77–81.
8. Кобылянский, В.И. Мукоцилиарная система. Фундаментальные и прикладные аспекты / В.И. Кобылянский. – М.: Бином, 2008. – 416 с.
9. Кондратенко, О.В. Особенности формирования патологического процесса в почках под влиянием микрофлоры нижних дыхательных путей у детей с муковисцидозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Кондратенко Ольга Владимировна. – Самара, 2009. – 25 с.

10. Кондратенко, О.В. Ранняя диагностика заболеваний почек у детей с муковисцидозом / О.В. Кондратенко, Н.В. Русакова // Вестник СамГУ – Естественная серия. – 2007. – Т. 52, № 2. – С. 180–188.
11. Кондратенко, О.В. Формирование патологического процесса в почках под влиянием микрофлоры нижних дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом / О.В. Кондратенко // VII Всероссийская университетская научно-практическая конференция молодых ученых по медицине: сборник материалов. Тула, 2008. – С. 97–99.
12. Кузнецова, А.А. Исследование развития функции почек и их регуляция у детей на фоне патологического процесса / А.А. Кузнецова, Ю.В. Наточин // Журн. Эволюц. биохимии и физиологии. – 2005. – Т. 41, № 3. – С. 277–284.
13. Кузнецова, А.А. Физиологический анализ гипоосмоляльности плазмы крови при пневмонии / А.А. Кузнецова, Ю.В. Наточин // Терапевтический архив. – 2002. – № 12. – С. 56–60.
14. Марина, А.С. Анализ крови и мочи в клинической диагностике: справочник педиатра. Монография / А.С. Марина, Ю.В. Наточин. – СПб.: СпецЛит, 2016. – 159 с.
15. Маркданте, К. Основы педиатрии по Нельсону / К. Маркданте, Р. Клигман пер. с англ. Е. В. Кокарева. – 8-е издание. – М.: Эксмо, 2021. – С. 573–576.
16. Муковисцидоз (клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация) / А.В. Орлов, О.И. Симонова, Е.А. Рославцева, Д.И. Шадрин. – СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2014. – 160 с.
17. Наточин, Ю.В. Гомеостаз / Ю.В. Наточин // Успехи физиологических наук. 2017. – Т. 48, № 4. – С. 3–15.
18. Наточин, Ю.В. К механизму диуретического действия диафиллина / Ю.В. Наточин, Г.М. Голо, Т.М. Наточина // Тера. Архив. – 1965. – Т. 37, № 2. – С. 57–64.
19. Наточин, Ю.В. Клиренс осмотически свободной и свободной от натрия воды: клиническое значение / Ю.В. Наточин // Нефрология. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 9–15.

20. Наточин, Ю.В. Константы концентрации калия и натрия в сыворотке крови – поиск факторов регуляции / Ю.В. Наточин, Д.В. Голосова, И.Г. Каюков // Физиология человека. 2018. – Т. 44, № 4. – С. 67–73.
21. Наточин, Ю.В. Почка: справочник врача / Ю.В. Наточин. – СПб.: Изд. СПб Университета, 1997. – 208 с.
22. Национальный консенсус (2-е издание) «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» 2018 / под редакцией Е.И. Кондратьевой, Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова. – М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2018. – 356 с.
23. Неудахин, Е.В. Клинико-биохимическая характеристика функционального состояния почек у детей с муковисцидозом / Е.В. Неудахин [и др.] // 6-ой национальный конгресс по муковисцидозу. Сборник статей и тезисов. Санкт-Петербург, 2003. – С. 74–75.
24. Олейник, Н.А. Катамнез детей, перенесших пневмонию / Н.А. Олейник, Ф.П. Романюк // Педиатр. – 2016. – Т. 7, № 3. – С. 128–135.
25. Папаян, А.В. Клиническая нефрология детского возраста Руководство для врачей / А.В. Папаян, Н.Д. Савенкова. – СПб.: «Левша. Санкт-Петербург», 2008. – 600 с.
26. Педиатрия: национальное руководство. Краткое издание / под ред. А.А. Баранова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – С.585–597.
27. Педиатрия: национальное руководство: в 2 т. / под ред. А.А. Баранова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 2048 с.
28. Пневмония (внебольничная): клинические рекомендации [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Рос. Федерации; Союз педиатров России // Союз педиатров России. – Электрон. дан. – [Б. м.]. – 2022. – Режим доступа: <https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/deystvuyushchie-klinicheskie-rekomendatsii/index.php>, свободный. – Загл. с экрана.
29. Показатели водно-солевого гомеостаза и их вариабельность / Ю.В. Наточин, С.И. Рябов, И.Г. Каюков [и др.] // Физиология человека. – 1980. – Т. 6, № 4. – С. 647–650.

30. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2018 год / под ред. Е.Л. Амелиной, Н.Ю. Каширской, Е.И. Кондратьевой [и др.] – М.: ИД «Медпрактика-М», 2020. – 68 с.
31. Редкое осложнение муковисцидоза – АА – амилоидоз у мальчика 12 лет / И.И. Закиров, А.И. Сафина, Т.П. Макарова [и др.] // Педиатрия. – 2017. – Т. 96, № 2. – С. 219–226.
32. Рост и развитие ребенка. 3-е изд. / В.В. Юрьев, А.С. Симаходский, Н.Н. Воронович [и др.] – СПб.: Питер, 2007. – 272 с.
33. Светлова, З.В. Ионорегулирующая функция почек при муковисцидозе у детей / З.В. Светлова, Н.Н. Смирнова // Нефрология. – 2000. – Т. 4, № 2. – С. 124–125.
34. Светлова, З.В. Особенности функции почек при муковисцидозе у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Светлова Зоя Викторовна. – Санкт-Петербург, 2002. – 19 с.
35. Светлова, З.В. Функция почек при муковисцидозе / З.В. Светлова, Н.Н. Смирнова // Нефрология. – 1999. – Т. 3, № 3. – С. 28–32.
36. Смирнова, Н.Н. Функция почек при муковисцидозе у детей / Н.Н. Смирнова, З.В. Светлова // Нефрология. – 2001. – Т. 5, № 3. – С. 78–79.
37. Толстова, В.Д. Характер поражения почек у детей, больных муковисцидозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Толстова Виктория Давидовна. – Москва, 2005. – 22 с.
38. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с первичной цилиарной дискинезией [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Рос. Федерации; Союз педиатров России // Союз педиатров России. – Электрон. дан. – [Б. м.]. – 2016. – Режим доступа: <https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/deystvuyushchie-klinicheskie-rekomendatsii/index.php>, свободный. – Загл. с экрана.
39. Физиология роста и развития детей и подростков (теоретические и клинические вопросы): практическое руководство / под ред. А.А. Баранова, Л.А. Щеплягиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 432 с.

40. Характер поражения почек у детей с муковисцидозом / Е.В. Неудухин, В.Д. Толстова, Н.В. Алексеева [и др.] // Детская больница. – 2004. – № 1. – С. 37–43.
41. Характер поражения почек у детей, больных муковисцидозом / В.Д. Толстова, Н.И. Капранов, Е.В. Неудухин [и др.] // 7-й национальный конгресс по муковисцидозу. Сборник статей и тезисов. – 2005. – С. 79–82.
42. Шабалов, Н.П. Детские болезни: учебник для вузов. 6 изд. / Н.П. Шабалов. – СПб.: Питер, 2009. – Т. 2. – 928 с.
43. Шахматова, Е.И. Соотношение экскреции аргинин-вазопрессина и реабсорбции натрия и воды в почке / Е.И. Шахматова, Д.В. Голосова, Ю.В. Наточин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166, № 10. – С. 400–403.
44. Шейман, Дж. Патофизиология почки / Дж. Шейман. – М.: Бином, 2019. – 206 с.
45. A CF patient with progressive proteinuric renal disease: a CF-specific nodular glomerulosclerosis? / O. O'Connell, C.N. Magee, B. Fitzgerald [et al.] // NDT Plus. – 2010. – Vol. 3, № 4. – P. 354–356.
46. A severe H7N9 pneumonia with syndrome of inappropriate antidiuresis and vitamin D deficiency / L. Leng, Y. Jin, Ch. Gang [et al.] // Med. Case. Rep. – 2014. – Vol. 12. – P. 37–8.
47. Acute metabolic alkalosis in cystic fibrosis: prospective study and review of the literature / S. Mauri, G. Pedrolì, A. Rùdeberg [et al.] // Miner Electrolyte Metab. – 1997. – Vol. 23. – P. 33–37.
48. Acute renal failure in cystic fibrosis: association with inhaled tobramycin therapy / I.M. Hoffmann, B.K. Rubin, S.S. Iskandar [et al.] // Pediatric Pulmonology. – 2002. – Vol. 34. – P. 375–377.
49. Al-Aloul, M. The renoprotective effect of concomitant fosfomycin in the treatment of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis / M. Al-Aloul, D. Nazareth, M. Walshaw // Clinical Kidney Journal. – 2019. – Vol. 12, № 5. – P. 652–658.

50. Al-Shawwa, B.A. Cystic fibrosis and renal disease: a case report / B.A. Al-Shawwa, A.R. Rao // *J Med Case Reports*. – 2007. – Vol. 1, № 1. – P. 24.
51. Aminoglycoside exposure and renal function before lung transplantation in adult cystic fibrosis patients / E. Novel-Catin, S. Pelletier, Q. Reynaud [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant*. – 2018. – Vol. 34, № 1. – P. 118–122.
52. Aminoglycosides and renal magnesium homeostasis in humans / R.O. von Vigier, A.C. Truttmann, K. Zindler-Schmocker [et al.] // *Nephrol Dial Transplant*. – 2000. – Vol. 15. – P. 822–826.
53. An antimicrobial protein, lactoferrin exists in the sweat: proteomic analysis of sweat / J.H. Park, G.T. Park, I.H. Cho [et al.] // *Exp Dermatol*. – 2011. – Vol. 20. – P. 369–371.
54. Analysis of CFTR folding and degradation in transiently transfected cells / D.E. Grove, M.F.N. Rosser, R.L. Watkins [et al.] // *Methods in Molecular Biology*. – 2011. – P. 219–232.
55. Andersen, D.H. Celiac syndrome. Genetics of cystic fibrosis of the pancreas with consideration of the etiology / D.H. Andersen, R.C. Hodges // *Am J Dis Child*. – 1946. – Vol. 72. – P. 62–80.
56. Andersen, D.H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study / D.H. Andersen // *Am J Dis Child*. – 1938. – Vol. 56. – P. 344–399.
57. Arginine vasopressin regulates CFTR and ClC-2 mRNA expression in rat kidney cortex and medulla / M.M. Morales, D.S. Nascimento, M.A. Capella [et al.] // *Pflugers Arch*. – 2001. – Vol. 443. – P. 202–211.
58. Assessment of renal function in cystic fibrosis patients by estimated and measured glomerular filtration rate — a cross-sectional study / K. Jain, A. Prayle, S. Lewis [et al.] // *J Cyst Fibros*. – 2012. – Vol. 11. – P. 52.
59. Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism / S.D. Freedman, P.G. Blanco, Z.M.M. Shea [et al.] // *N Engl J Med*. – 2004. – Vol. 350. – P. 560–569.

60. Astudillo, P. Historia de la fibrosis quística / P. Astudillo // *Neumol Pediatr.* – 2010. – Vol. 5. – P. 2–3.
61. Bankir, L. Vasopressin: physiology, assessment, and osmosensation / L. Bankir, D.G. Bichet, N.G. Morgenthaler // *J. Intern. Med.* – 2017. – Vol. 282, № 4. – P. 284–287.
62. Berg, U. Renal function in cystic fibrosis with special reference to the renal sodium handling / U. Berg, E. Kusoffsky, B. Strandvik // *Acta Paediatr Scand.* – 1982. – Vol. 71, № 5. – P. 833–838.
63. Bicarbonate and functional CFTR channel are required for proper mucin secretion and link cystic fibrosis with its mucus phenotype / J.K. Gustafsson, A. Ermund D. Ambort [et al.] // *J Exp Med.* – 2012. – Vol. 209. – P. 1263–1272.
64. Bicarbonate conductance and pH regulatory capability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator / J.H. Poulsen, H. Fischer, B. Illek [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1994. – Vol. 91. – P. 5340–5344.
65. Blackfan, K.D. Inspissation of secretion and dilatation of ducts and acini, atrophy and fibrosis of the pancreas in infants. A clinical note / K.D. Blackfan, C.D. May // *J Pediatr.* – 1938. – Vol. 13. – P. 627–634.
66. Bodian, M. Fibrocystic disease of the pancreas: a congenital disorder of mucus production-mucosis / M. Bodian. – London: William Heinemann Medical, 1952. – 244p.
67. Both the wild type and a functional isoform of CFTR are expressed in kidney / M.M. Morales, T.P. Carroll, T. Morita [et al.] // *Am J Physiol.* – 1996. – Vol. 270. – P. F1038–1048.
68. Busch, R. On the history of cystic fibrosis / R. Busch // *Acta Univ Carol Med.* – 1995. – Vol. 36. – P. 13–15.
69. Carlyle, B.E. A review of pathophysiology and management of fetuses and neonates with meconium ileus for the pediatric surgeon / B.E. Carlyle, D.S. Borowitz, P.L. Glick // *J Pediatr Surg.* – 2012. – Vol. 47. – P. 772–781.



70. Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin / M. Murakami, T. Ohtake, R.A. Dorschner [et al.] // *J Invest Dermatol.* – 2002. – Vol. 119. – P. 1090–1095.
71. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels / M.J. Stutts, C.M. Canessa, J.C. Olsen [et al.] // *Science.* – 1995. – Vol. 269, № 5225. – P. 847–850.
72. CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP / E.M. Schwiebert, M.E. Egan, T.H. Hwang [et al.] // *Cell.* – 1995. – Vol. 81. – P. 1063–1073.
73. Clinical assessment of renal function / G.J. Schwartz, K.K. Kher, H.W. Schnaper [et al.] // *Clinical Pediatric Nephrology*, 3rd edn. Boca Raton. CRC Press. – 2016. – P. 45–73.
74. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani, H. Cuppens, M. Jr. Macek [et al.] // *J Cyst Fibros.* – 2008. – Vol. 7, № 3. – P. 179–196.
75. Contemporary national trends of cystic fibrosis hospitalizations and co-morbidities in the United States / K. Chatterjee, A. Goyal, N. Shah [et al.] // *Adv Respir Med.* – 2016. – Vol. 84, № 6. – P. 316–323.
76. Csanády, L. Structure, gating, and regulation of the CFTR anion channel / L. Csanády, P. Vergani, D.C. Gadsb // *Physiol Rev.* – 2019. – Vol. 99. – P. 707–738.
77. Cui, C.Y. Eccrine sweat gland development and sweat secretion / C.Y. Cui, D. Schlessinger // *Exp Dermatol.* – 2015. – Vol. 24. – P. 644–650.
78. Cystic fibrosis / F. Ratjen, S.C. Bell, S.M. Rowe [et al.] // *Nat Rev Dis Primers.* – 2015. – Vol. 1. – P. 15010.
79. Cystic fibrosis and AA amyloidosis: a survey in the French cystic fibrosis network / K.S. Stojanovic, D. Hubert, S. Leroy [et al.] // *Amyloid.* – 2014 – Vol. 21, № 4. – P. 231–237.
80. Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA marker / L. Tsui, M. Buchwald, D. Barker [et al.] // *Science.* – 1985. – Vol. 230. – P. 1054–1057.

81. Cystic Fibrosis: a risk condition for renal disease / D. Santoro, A. Postorino, C. Lucanto, [et al.] // *J Ren Nutr.* – 2017. – Vol. 27, № 6. – P. 470–473.
82. De Semis, D. Reparaciones de mutaciones en el gen CFTR como estrategia de terapia génica para la fibrosis quística / D. De Semis // Tesis doctoral. Universidad Pompeu Fabra. – 2005. – P. 4–6.
83. Decaux, G. Clinical laboratory evaluation of the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone / G. Decaux, W. Musch // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2008. – Vol. 3. – P. 1175–1184.
84. Decreased renal clearance of sodium in cystic fibrosis / P. Stenvinkel, L. Hjelte, G. Alván [et al.] // *Acta Paediatr. Scand.* – 1991. – Vol. 80. – P. 194–198.
85. Defective acidification of intracellular organelles in cystic fibrosis / J. Barasch, B. Kiss, A. Prince [et al.] // *Nature.* – 1991. – Vol. 352. – P. 70–73.
86. Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity / M.P. Anderson, R.J. Gregory, S. Thompson [et al.] // *Science.* – 1991. – Vol. 253. – P. 202–205.
87. Developmental regulation of CFTR expression during human nephrogenesis / O. Devuyst, C.R. Burrow, E.M. Schwiebert [et al.] // *Am J Physiol.* – 1996. – Vol. 271. – P. 723–735.
88. Downward resetting of the osmotic threshold for thirst in patients with SIADH / D. Smith, K. Moore, W. Tormey [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 287. – P. E1019–1023.
89. Eccrine sweat glands are major contributors to reepithelialization of human wounds / L. Rittie, D.L. Sachs, J.S. Orringer [et al.] // *Am J Pathol.* – 2013. – Vol. 182. – P. 163–171.
90. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision / C. Castellani, A.J.A. Duff, S.C. Bell [et al.] // *J Cyst Fibros.* – 2018. – Vol. 17, № 2. – P.153–178.
91. Effect of ATP concentration on CFTR Cl<sup>-</sup> channels: a kinetic analysis of channel regulation / M.C. Winter, D.N. Sheppard, M.R. Carson [et al.] // *Biophys J.* – 1994. – Vol. 66. – P. 1398–1403.

92. Effects of acute water load, hypertonic saline infusion, and furosemide administration on atrial natriuretic peptide and vasopressin release in humans / T. Kimura, K. Abe, K. Ota [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1986. – Vol. 62. – P. 1003–1010.
93. Efficacy of pancreatin preparations on fat and nitrogen absorptions in cystic fibrosis / K.T. Khaw, S. Adeniyi-Jones, D. Gordon [et al.] // *Pediatr Res.* – 1978. – Vol. 12. – P. 437.
94. Electrolyte abnormalities in cystic fibrosis: systematic review of the literature / E. Scurati-Manzoni, E.F. Fossali, C. Agostoni [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 2014. – Vol. 29. – P. 1015–1023.
95. Electrolyte abnormalities of sweat in fibrocystic disease of pancreas / R.C. Darling, P.A. Di Sant'Agnes, G.A. Perera [et al.] // *American Journal of Medical Science.* – 1953. – Vol. 225. – P. 67–70.
96. Estimation of GFR in patients with cystic fibrosis: a cross-sectional study / A. Wallace, A. Price, E. Fleischer [et al.] // *Canadian Journal of Kidney Health.* – 2020. – Vol. 7. – P. 1–9.
97. Expression of the cystic fibrosis gene in human foetal tissues / A.E. Trezise, J.A. Chambers, C.J. Wardle [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 1993. – Vol. 2. – P. 213–218.
98. Fajac, I. New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis / I. Fajac, C.E. Wainwright // *La Presse Médicale.* – 2017. – Vol. 46. – P. e165–e175.
99. Fanconi, G. Das coeliaksyndrom bei angeborener zystischer pankreasfibromatose und bronchiektasien / G. Fanconi, E. Uehlinger, C. Knauer // *Wien Med Wschr.* – 1936. – Vol. 86. – P. 753–756.
100. Faraji-Goodarzi, M. Pseudo-Bartter syndrome in children with cystic fibrosis / M. Faraji-Goodarzi // *Clin. Case Rep.* – 2019. – Vol. 7, № 6. – P. 1123–1126.
101. Farber, S. Pancreatic function and disease in early life. I. pancreatic enzyme activity and celiac syndrome / S. Farber, H. Shwachman, C.L. Maddock // *J Clin Invest.* – 1943. – Vol. 22, №6. – P. 827–828.
102. Florescu, M.C. Long-term effect of chronic intravenous and inhaled nephrotoxic antibiotic treatment on the renal function of patients with cystic fibrosis / M.C.

- Florescu, E. Lyden, P.J. Murphy // *Hemodial Int.* – 2012. – Vol. 16. – P. 414–419.
103. Flume European cystic fibrosis society standards of care: best practice guidelines / A.R. Smyth, S.C. Bell, S. Bojcin [et al.] // *J Cyst Fibros.* – 2014. – Vol. 13. – P. S23–S42.
  104. Forstner, G. Cystic Fibrosis / G. Forstner, P. Durie // *Pediatric Gastrointestinal Disease.* – 1991. – Vol. 2. – P. 1179–1197.
  105. Foskett, J.K. ClC and CFTR chloride channel gating / J.K. Foskett // *Annu Rev Physiol.* – 1998. – Vol. 60. – P. 689–717.
  106. Gadsby, D.C. The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis / D.C. Gadsby, P. Vergani, L. Csanády // *Nature.* – 2006. – Vol. 440. – P. 477–483.
  107. Gibney, E.M. The association of nephrolithiasis with cystic fibrosis / E.M. Gibney, D.S. Goldfarb // *Am J Kidney Dis.* – 2003. – Vol. 42, № 1. – P. 1–11.
  108. Gibson, L.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine iontophoresis / L.E. Gibson, R.E. Cooke // *Pediatrics.* – 1953. – Vol. 23. – P. 545–549.
  109. HIF-1 $\alpha$  regulates epithelial inflammation by cell autonomous NF $\kappa$ B activation and paracrine stromal remodeling / M. Scortegagna, C. Cataisson, R.J. Martin [et al.] // *Blood.* – 2008 – Vol. 111. – P. 3343–3354.
  110. Hyperacidity of secreted fluid from submucosal glands in early cystic fibrosis / Y. Song, D. Salinas, D.W. Nielson [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 290. – P. C741–C749.
  111. Hyponatremia in children with acute respiratory infections: a reappraisal / C. Lavagno, G.P. Milani, P. Uestruener [et al.] // *Pediatric Pulmonology.* – 2017. – Vol. 52. – P. 962–967.
  112. Hyponatremic dehydration as a presentation of cystic fibrosis / Y. Ballesterro, M.I. Hernandez, P. Rojo [et al.] // *Pediatr Emerg Care.* – 2006. – Vol. 22. – P. 725–727.

113. Identification and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-generated chloride channel / H.A. Berger, M.P. Anderson, R.J. Gregory [et al.] // J Clin Invest. – 1991. – Vol. 88. – P. 1422–1431.
114. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping / J.M. Rommens, M.C. Iannuzzi, B. Kerem [et al.] // Science. – 1989. – Vol. 245. – P. 1059–1065.
115. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA / J.R. Riordan, J.M. Rommens, B. Kerem [et al.] // Science. – 1989. – Vol. 245. – P. 1066–1073.
116. IgA nephropathy in cystic fibrosis / G. Stirati, M. Antonelli, C. Fofi [et al.] // J Nephrol. – 1999. – Vol. 12, № 1. – P. 30–31.
117. Immunocytochemical localization of the cystic fibrosis gene product CFTR / I. Crawford, P.C. Maloney, P.L. Zeitlin [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1991. – Vol. 88, № 20. – P. 9262–9266.
118. Incidence of nephrotoxicity with prolonged aminoglycoside exposure in patients with cystic fibrosis / A. Saad, M.R. Young, A.E. Studtmann [et al.] // Pediatric Pulmonology. – 2020. – Vol. 55, № 12. – P. 3384–3390.
119. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: pathogenesis and therapy / A.M. Cantin, D. Hartl, M.W. Konstan [et al.] // J Cyst Fibros. – 2015. – Vol. 14, № 4. – P. 419–430.
120. Kamal, N. Liver disease in patients with cystic fibrosis / N. Kamal, P. Surana, C. Koh // Curr Opin Gastroenterol. – 2018. – Vol. 34, № 3. – P. 146–151.
121. Kunzelmann, K. Bicarbonate in cystic fibrosis / K. Kunzelmann, R. Schreiber, H.B. Hadorn // J Cyst Fibros. – 2017. – Vol. 16. – P. 653–662.
122. Leach, H.C. Fluid and electrolyte regulation in space flight / H.C. Leach, A.I. Grigoriev, Yu.V. Natochin // American Astronautical Society Publication. – 1998. – P. 9–11.
123. LeClerc, L.K. Piperacillin-tazobactam versus cefepime incidence of acute kidney injury in combination with vancomycin and tobramycin in pediatric cystic

- fibrosis patients / L.K. LeClerc, R.S. Pettit // *Pediatric Pulmonology*. – 2017. – Vol. 52, № 8. – P. 1000–1005.
124. Leung, D.H. The intestinal microbiome and paediatric liver disease / D.H. Leung, D. Yimlamai // *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. – 2017. – Vol. 2, № 6. – P. 446–455.
  125. Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells / J.A. Cohn, T.V. Strong, M.R. Picciotto [et al.] // *Gastroenterology*. – 1993. – Vol. 105, № 6. – P. 1857–1864.
  126. Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in pancreas / C.R. Marino, L.M. Matovcik, F.S. Gorelick [et al.] // *J Clin Invest*. – 1991. – Vol. 88, № 2. – P. 712–716.
  127. Loss of CFTR function produces abnormalities in tracheal development in neonatal pigs and young children / D.K. Meyerholz, D.A. Stoltz, E. Namati [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med*. – 2010. – Vol. 182. – P. 1251–1261.
  128. Magnesium in cystic fibrosis-Systematic review of the literature / M. Santi, G.P. Milani, G.D. Simonetti [et al.] // *Pediatric Pulmonology*. – 2016. – Vol. 51, № 2. P. 196–202.
  129. Mall, M.A. CFTR: cystic fibrosis and beyond / M.A. Mall, D. Hartl // *Eur Respir J*. – 2014. – Vol. 44. – P. 1042–1054.
  130. Mall, M.A. Targeting ion channels in cystic fibrosis / M.A. Mall, L. J. V. Galletta // *J Cyst Fibros*. – 2015. – Vol. 14, № 5. – P. 561–570.
  131. Metabolic risk factors for stone formation in patients with cystic fibrosis / M.R. Perez-Brayfield, D. Caplan, J.M. Gatti [et al.] // *J Urol*. – 2002. – Vol. 167. – P. 480–484.
  132. Mimicry and well known genetic friends: molecular diagnosis in an Iranian cohort of suspected Bartter syndrome and proposition of an algorithm for clinical differential diagnosis / M. Najafi, D.M. Kordi-Tamandani, F. Behjati [et al.] // *J. Rare Dis*. – 2019. – Vol. 14, № 1. – P. 41

133. Mishra, A. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era / A. Mishra, R. Greaves, J. Massie // Clin Biochem Rev. – 2005. – Vol. 26, № 4. – P. 135–153.
134. Moffett, B.S. Ciprofloxacin-induced renal insufficiency in cystic fibrosis / B.S. Moffett, B.J. Rosenstei, P.J. Mogayzel // J Cyst Fibros. – 2003. – Vol. 2. – P. 152–154.
135. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas / N. Ahmed, M. Corey, G. Forstner [et al.] // Gut. – 2003. – Vol. 52, № 8. – P. 1159–1164.
136. Molecular structure of the human CFTR ion channel / L.F. Zhang, Z. Csanády L. Gadsby [et al.] // J.Cell. – 2017. Vol. 169. – P. 85–95.
137. Morales, M.M. The cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) in the kidney / M.M. Morales, D. Falkenstein., A.G. Lopes // An. Acad. Bras. Cienc. – 2000. – Vol. 72. – P. 399–406.
138. Moritz, M.L. Syndrome of inappropriate antidiuresis / M.L. Moritz // Pediatr. Clin. North. Am. – 2019. – Vol. 66, № 1. – P. 209–226.
139. Morris, A.P. Vesicle targeting and ion secretion in epithelial cells: implications for cystic fibrosis / A.P. Morris, R.A. Frizzell // Ann Rev Physiol. – 1994. – Vol. 56. – P. 371–397.
140. Multi-ion pore behaviour in the CFTR chloride channel / J.A. Tabcharani, J.M. Rommens, Y.X. Hou [et al.] // Nature. – 1993. – Vol. 366. – P. 79–82.
141. Ma, H. Luminal adenosine receptors regulate amiloride-sensitive Na<sup>+</sup> channels in A6 distal nephron cells / H. Ma, B.N. Ling // Am. J. Physiol. – 1996. – Vol. 270. – P. F798–F805.
142. Natocnin, Yu.V. Evolutionary aspects of renal function / Yu.V. Natocnin // Kidney Int. – 1996. – Vol. 49. – P. 1539–1542.
143. Navarro S. Historical compilation of cystic fibrosis / S. Navarro // Gastroenterol Hepatol. – 2016. – Vol. 39, № 1. – P. 36–42.
144. Nazareth, D. A review of renal disease in cystic fibrosis / D. Nazareth, M. Walshaw // J Cyst Fibros. – 2013. – Vol. 12. – P. 309–317.

145. Nucleoside triphosphates are required to open the CFTR chloride channel / M.P. Anderson, H.A. Berger, D.P. Rich [et al.] // *Cell*. – 1991. – Vol. 67. – P. 775–784.
146. Ong, T. Update in cystic fibrosis 2014 / T. Ong, B.W. Ramsey // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2015. – Vol. 192. – P. 669–675.
147. Predictors of failure to respond to fluid restriction in SIADH in clinical practice; time to re-evaluate clinical guidelines? / M. Cuesta, A. Ortola, A. Garrahy [et al.] // *QJM*. – 2017. – Vol. 110, № 8. – P. 489–492.
148. Prevalence and characteristics of chronic kidney disease among Danish adults with cystic fibrosis / K.H. Berg, L. Ryom, D. Faurholt-Jepsen [et al.] // *J Cyst Fibros.* – 2018. – Vol. 17, № 4. – P. 478–483.
149. Pseudo-Bartter syndrome in chinese children with cystic fibrosis: clinical features and genotypic findings / Y. Shen, X. Tang, J. Liu [et al.] // *Pediatric Pulmonology*. – 2020. – Vol. 55. – P. 3021.
150. Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) / C.E. Bear, C.H. Li, N. Kartner [et al.] // *Cell*. – 1992. – Vol. 68, № 4. – P. 809–818.
151. Quinton, P.M. Chloride impermeability in cystic fibrosis / P.M. Quinton // *Nature*. – 1983. – Vol. 301. – P. 421–422.
152. Quinton, P.M. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis / P.M. Quinton // *Lancet*. – 2008. – Vol. 372. – P. 415–417.
153. Quinton, P.M. Cystic fibrosis: lessons from the sweat gland / P.M. Quinton // *Physiology (Bethesda)*. – 2007. – Vol. 22. – P. 212–225.
154. Quinton, P.M. Higher bioelectric potentials due to decreased chloride absorption in the sweat glands of patients with cystic fibrosis / P.M. Quinton, J. Bijman // *N Engl J Med*. – 1983. – Vol. 308. – P. 1185–1189.
155. Quon, B.S. New and emerging targeted therapies for cystic fibrosis / B.S. Quon, S.M. Rowe // *BMJ*. – 2016. – Vol. 352. – P. i859.
156. Raña, P. Desarrollo de nuevas técnicas para el análisis genético en la fibrosis quística: aplicación al cribado neonatal / P. Raña // Tesis doctoral. Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Santiago. – 2008. – P. 21–23.



157. Refardt, J. Copeptin and its role in the diagnosis of diabetes insipidus and the syndrome of inappropriate antidiuresis / J. Refardt, B. Winzeler, M. Christ-Crain // Clin. Endocrinol. – 2019. – Vol. 91, № 1. – P. 22–32.
158. Regulation of epithelial sodium channels by short actin filaments / D.K. Berdiev, A.G. Prat, H.F. Cantiello [et al.] // J Biol Chem – 1996. – Vol. 271. – P. 17704–17710.
159. Regulation of epithelial sodium channels by the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator / I.I. Ismailov, A. Wayda, M.S. Jovov [et al.] // J Biol Chem. – 1996. – Vol. 271. – P. 4725–4732.
160. Renal amyloidosis in cystic fibrosis: role of colchicine therapy / D. Santoro, A. Postorino, S. Costa [et al.] // Clinical Kidney Journal. – 2014. – Vol. 7. – P. 81–82.
161. Renal assessment in teenage patients with cystic fibrosis - preliminary report / D. Sands, J. Jaworska, A. Urzykowska [et al.] // Dev Period Med. – 2015. – Vol. 19, № 1. – P. 98–104.
162. Renal biopsies in cystic fibrosis / H. Michalsen, E. Monn, T. Bergan [et al.] // Pathol Res Pract. – 1984. – Vol. 178, № 3. – P. 261–267.
163. Renal function in cystic fibrosis / B. M. Assael, G. Marra, A. S. Tirelli [et al.] // J Pediatr Nephrol. – 1986. – Vol. 7, № 4. – P. 213–216.
164. Renal function in patients with cystic fibrosis / A.M. Robson, S. Tateishi, J.R. Ingelfinger [et al.] // J Pediatr. – 1971. – Vol. 79. – P. 42–50.
165. Renal function in patients with cystic fibrosis / M. Aladjem, D. Lotan, H. Boichis [et al.] // Nephron. – 1983. – Vol. 34, № 2. – P. 84–86.
166. Renal function in pediatric cystic fibrosis patients in the first decade of life / C. Prestidge, M.A. Chilvers, A.G.F. Davidson [et al.] // Pediatr Nephrol. – 2011. – Vol. 26. – P. 605–612.
167. Renal impairment in children with cystic fibrosis / A. Andrieux, J. Harambat, S. Bui [et al.] // J Cyst Fibros. – 2010. – Vol. 9, № 4. – P. 263–268.

168. Renal involvement and metabolic alterations in adults patients affected by cystic fibrosis / S. Lai, S. Mazzaferro, A.P. Mitterhofer [et al.] // *J Transl Med.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 388.
169. Renal involvement in cystic fibrosis: diseases spectrum and clinical relevance / Y. Yahiaoui, M. Jablonski, D. Hubert [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2009. – Vol. 4, № 5. – P. 921–928.
170. Rescorla, F.J. Contemporary management of meconium ileus / F.J. Rescorla, J.L. Grosfeld // *World J Surg.* – 1993. – Vol. 17 – P. 318–325.
171. Riordan, J.R. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator / J.R. Riordan // *Ann Rev Physiol.* – 1993. – Vol. 55. – P. 609–630.
172. Risk factors for chronic kidney disease in adults with cystic fibrosis / B.S. Quon, N. Mayer-Hamblett, M.L. Aitken [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2011. – Vol. 184. – P. 1147–1152.
173. Rokitansky, K. Handbuch der pathologischen anatomie / K. Rokitansky. – Vienna: Braumuller & Seidel, 1842. – 912p.
174. Safety of intravenous tobramycin in combination with a variety of anti-pseudomonal antibiotics in children with cystic fibrosis / A.R. Deschamp, R.S. Pettit, J.A. Donaldson [et al.] // *SAGE Open Med.* – 2017. – Vol. 5. – P. 1–6.
175. Saint-Criq, V. Role of CFTR in epithelial physiology / V. Saint-Criq, M.A. Gray // *Cell Mol Life Sci.* – 2017. – Vol. 74. – P. 93–115.
176. Samaniego-Picota, M.D. Aminoglycoside-induced nephrotoxicity in cystic fibrosis: a case presentation and review of the literature / M.D. Samaniego-Picota, A. Whelton // *Am J Ther.* – 1996. – Vol. 3. – P. 248–257.
177. Sathe, M. Meconium ileus in cystic fibrosis / M. Sathe, R. Houwen // *J Cyst Fibros.* – 2017. – Vol. 2. – P. S32–S39.
178. Schück, O. Examination of kidney function / O. Schück. – Martinus-Nijhoff Publishers, Boston, 1984. – 312p.
179. Seldin and Giebisch's The kidney. Physiology and pathophysiology / R.J. Halpern, S.C. Hebert [et al.] – 4th edn. – Elsevier, New York, 2008. – P. 1123–1142.

180. Sensitivity of a renal K<sup>+</sup> channel (ROMK2) to the inhibitory sulfonylurea compound glibenclamide is enhanced by coexpression with the ATP-binding cassette transporter cystic fibrosis transmembrane regulator / C.M. McNicholas, W.B. Guggino, E.M. Schwiebert [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1996. – Vol. 93. – P. 8083–8088.
181. Severe nephropathy in three adolescents with cystic fibrosis / M.L. Melzi, D. Costantini, M. Giani [et al.] // *Arch Dis Child*. – 1991. – Vol. 66, № 12. – P. 1444–1447.
182. Shamsuddin, A.K. Native small airways secrete bicarbonate / A.K. Shamsuddin, P.M. Quinton // *Am J Respir Cell Mol Biol*. – 2014. – Vol. 50. – P. 796–804.
183. Small nuclear RNAs U11 and U12 modulate expression of TNR-CFTR mRNA in mammalian kidneys / J. Souza-Menezes, D.N. Tukaye, H.J. Novaira [et al.] // *Cell Physiol Biochem*. – 2008. – Vol. 22. – P. 93–100.
184. Smith, H.W. Principles of renal physiology / H.W. Smith. New York. Oxford University Press, 1956. – 237p.
185. Sodium and volume homeostasis / M. Baum, K. Kher, H.W. William Schnaper [et al.] // *Clinical Pediatric Nephrology*. – 2016. – P. 165–183.
186. Souza-Menezes, J. CFTR structure and function: is there a role in the kidney? / J. Souza-Menezes, M.M. Morales // *Biophys Rev*. – 2009. – Vol. 1, № 1. – P. 3–12.
187. Stephens, S.E. Cystic fibrosis and renal disease / S.E. Stephens, S.P.A. Rigden // *Paediatr Respir Rev*. – 2002. – Vol. 3, № 2. – P. 135–138.
188. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) and its stability / X. Meng, J. Clews, V. Kargas [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. – 2017. – Vol. 74 – P. 23–38.
189. The history of cystic fibrosis / J.P. Frías, E.P. Ruiz, L. MDC Castillo [et al.] // *Open J Pediatr Child Health*. – 2019. – Vol. 4, № 1. – P. 001–006.
190. The syndrome of inappropriate antidiuresis: pathophysiology, clinical management and new therapeutic options / P. Esposito, G. Piotti, S. Bianzina [et al.] // *Nephron Clin. Pract*. – 2011. – Vol. 119, № 1. – P. 62–73.

191. Thyroid hormones stimulate renal expression of CFTR / A.C. De Andrade Pinto, C.M. Barbosa, D.S. Ornellas [et al.] // *Cell Physiol Biochem.* – 2007. – Vol. 20. – P. 83–90.
192. Tracheomalacia is associated with lower FEV and *Pseudomonas* acquisition in children with CF / A.J. Fischer, S.B. Singh, R.J. Adam, [et al.] // *Pediatric Pulmonology.* – 2013. – Vol. 49, № 10. – P. 960–970.
193. Trauer, J.M. The syndrome of inappropriate anti-diuretic hormone secretion concurrent with an acute exacerbation of cystic fibrosis / J.M. Trauer, J.P. Wrobel, A.C. Young // *J Cyst Fibros.* – 2008. – Vol. 7. – P. 573–75.
194. Turner, M.A. Oxalate and calcium excretion in cystic fibrosis / M.A. Turner, D. Goldwater, T.J. David // *Arch Dis Child.* – 2000. – Vol. 83. – P. 244–247.
195. Urinary excretion substances in patients with cystic fibrosis: risk of urolithiasis? / B. Hoppe, A Hesse, S Brömme [et al.] // *Pediatr Nephrol.* – 1998. – Vol. 12, № 4. – P. 275–279.
196. Urinary system and renal involvement in children with cystic fibrosis / N. Esfandiar, G. Khanbabaee, K. R. Kermani [et al.] // *J Kidney Dis.* – 2020. – Vol. 14, № 4. – P. 278–281.
197. Water homeostasis / M.A. Cadnapaphornchai, K. Kher, H.W. William Schnaper [et al.] // *Clinical Pediatric Nephrology.* – 2016. – P. 255–285.
198. Welsh M.J. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis / M.J. Welsh, A.E. Smith // *Cell.* – 1993. – Vol. 73. – P. 1251–1254.
199. What is the best method for measuring renal function in adults and children with cystic fibrosis? / N. Soulsby, H. Greville, K. Coulthard [et al.] // *J Cyst Fibros.* – 2010. – Vol. 9. – P. 124–129.
200. WHO Child Growth Standards / M. de Onis, C.Garza, A.W.Onyango, R.Martorell // *Acta Paediatrica Suppl.* – 2006. – №450: 1. – P. 101.
201. Zhang, Z. Atomic structure of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator / Z. Zhang, J. Chen // *Cell.* – 2016. – Vol. 167, № 6. – P.1586–1597.

202. Zielenski, J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis / J. Zielenski // Respiration. – 2000. – Vol. 67, № 2. – P. 117–133.