

ОГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России
Диссертационные советы
Вх. № 49 от 23.01. 2023 г.
Приложение на — листах

Муковисцидоз (МВ)— генетически детерминированное заболевание, в основе которого лежат мутации гена, кодирующего белок CFTR (трансмембранный регулятор проводимости), что нарушает функции экзокринных желез [Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, 2014]. Белок CFTR локализуется в апикальной мембране клеток эпителия, где функционирует как хлорный канал и обеспечивает транспорт ионов через плазматическую мембрану экзокринной клетки [L.F. Zhang, Z. Csanády L. Gadsby, 2017]. Дефект белка CFTR сопровождается нарушением транспорта ионов хлора, что изменяет электролитный состав секретируемых жидкостей, они становятся чрезмерно густыми и вязкими. Известно, что мРНК CFTR экспрессируется в клетках ряда сегментов почечных канальцев. Вызванное им нарушение функций почек в большинстве случаев носит вторичный характер [A. Andrieux, J. Harambat, 2010].

Патогенетические механизмы основных симптомов нарушения функции почек при муковисцидозе у детей остаются недостаточно изученными. Имеются единичные исследования об особенностях осморегулирующей функции почек у пациентов с муковисцидозом. Функция почек у детей с муковисцидозом оценивается по показателям протеинурии, гематурии, ферментурии, гиперкальциурии, гипероксалурии [Кондратенко, О.В., 2007, N. Esfandiar, G. Khanbabaee, 2020]. Установлены изменения скорости клубочковой фильтрации при МВ, показателей способности почек к осмотическому концентрированию и разведению мочи. Остаются нерешенными вопросы о состоянии резервных возможностей систем водно-солевого обмена, процессов транспорта ионов и воды в почках, их роли в патогенезе муковисцидоза, что требует разработки и внедрения критериев нового варианта пробы с водной нагрузкой и водной депривацией для оценки осморегулирующей функции почек.

Цель диссертационной работы по исследованию состояния водно-солевого обмена и особенностей функции почек у детей при муковисцидозе достигнута. Задачи выполнены.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Автором 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 Na^+/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.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

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

В соответствии с поставленной целью, задачами и дизайном выполнения диссертационной работы, определены объекты научного исследования и комплекс современных методов.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, научно обоснованы и полностью являются результатом применения комплекса информативных и достоверных методов обследования пациентов, адекватного статистического анализа, что позволило решить сформулированные автором задачи и достичь поставленной цели работы. Исследование выполнено на достаточном количестве клинических наблюдений. Автором подробно изложен дизайн исследования и тактика выбора пациентов. Работа выполнена на достаточно высоком методологическом уровне.

Автором применены современные методики статистической обработки данных, что позволило обосновать сделанные в работе выводы и сформулировать практические рекомендации. Достоверность полученных в ходе работы данных не вызывает сомнения.

Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации А.В. Нистаровой, соответствуют требованиям ВАК РФ.

Основные результаты исследования представлены на Всероссийских и Международных конференциях, опубликованы в рецензируемых научных журналах.

Теоретическая и практическая и значимость

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 почек у пациентов в педиатрической практике, а также диагностировать синдром неадекватной секреции вазопрессина у пациентов с муковисцидозом и внебольничной пневмонией.

Расчет Na^+/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.

Оценка содержания диссертации

Диссертация Нистаровой А.В. оформлена в соответствии с требованиями ВАК и изложена на 125 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц и 24 рисунка. 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.

Во введении сформулировано обоснование актуальности выбранной темы исследования. Цель и задачи составлены чётко и конкретно в логической их взаимосвязи. Представлены научная новизна и практическая значимость. Положения, выносимые на защиту, содержат основные научные результаты и новизну проведённых исследований.

В обзор литературы (11-34 стр.) включен анализ современных научных данных по изучаемой теме, подробно изложены симптомы нарушения функции почек при муковисцидозе у детей; описана роль CFTR в патогенезе основных клинических форм муковисцидоза.

Глубокий анализ современных источников литературы позволил автору аргументировать актуальность диссертационного исследования, сформулировать цель и задачи. Обзор литературы написан грамотно, с чётким изложением и обсуждением материала.

Во 2 главе (35-49 стр.), посвященной материалам и методам представлен дизайн исследования, дана характеристика обследуемых групп пациентов, перечень методик в соответствии с поставленными задачами.

Обследовано 136 детей в возрасте от 3 месяцев до 18 лет (девочки – 50 (37 %), мальчики – 86 (63%)). Группа пациентов с МВ составила 50 детей, из них 22 девочки (44%) и 28 (56%) мальчиков. Группу сравнения составили 50 пациентов с внебольничной пневмонией (ВП) (девочки – 17 (34%), мальчики – 33 (66%)). В группу контроля вошли 25 здоровых детей (девочки – 14 (56%), мальчики – 11 (44%)).

При клиническом обследовании пациентов производился сбор жалоб, анализ анамнеза заболевания и жизни. По результатам физикального обследования проведена оценка физического развития – антропометрические измерения (масса, рост, с 2 лет – ИМТ). Физическое развитие оценивалось по общепринятой методике. Лабораторные методы исследования включали: клинический анализ крови (исследование гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, скорости оседания эритроцитов (СОЭ)); 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); определение панкреатической эластазы – 1 иммуноферментным методом в кале. Для

оценки электролитного состава пота использовали классический метод пилокарпинового электрофореза по Гибсону и Куку (1959 г).

Проведенное молекулярно-генетическое обследование пациентам с МВ показало, что наиболее распространенной мутацией является мутация F508del, которая составила 66% (33 ребенка).

Инструментальные методы обследования пациентов включали – рентгенограмму органов грудной полости в 2-х проекциях; дополнительно – ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, мочевого пузыря, почек, компьютерную томографию органов грудной полости, брюшной полости и придаточных пазух носа, бронхоскопию с взятием смывов для посева на флору, а также брали биопсию для определения частоты паттерна движения ресничек мерцательного эпителия.

Проведены диагностические пробы: на осмотическое концентрирование мочи; проба с водной нагрузкой.

Статистическая обработка осуществлена с помощью программы Microsoft Excel 2007 с использованием пакета анализа данных и STATISTICA 6.0.

В 3 главе «Результаты исследования» (50-91 стр.) автором доказано, что у пациентов с МВ физико-химические параметры сыворотки крови (осмоляльность 291 мОсм/кг H_2O и концентрация основных ионов (Na, K, Ca, Mg, Cl) соответствуют стандартам нормы у детей.

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.

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.

Доказано, что 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.

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 ($p < 0,001$).

Автором доказано, что 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 мкмоль/л в сыворотки крови у пациентов с

МВ ниже по сравнению со здоровыми детьми 78 мкмоль/л, в связи с меньшей мышечной массой тела.

На основании полученных данных автором представлены новые сведения 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 внеклеточной жидкости, но не воды, свободной от ионов калия. 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.

Полученные результаты показали, что имеется высокая концентрация вазопрессина 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 коцептина статистически значимо снизилась на фоне водной нагрузки. Сравнение концентрации вазопрессина и коцептина в одних и тех же пробах мочи у детей с SIADH при ВП после водной нагрузки показало высокую корреляцию между этими показателями, что указывает на сходство секреции нонапептида в гипофизе и экстрагипофизарных локусах.

Выявлена высокая корреляция между экскрецией вазопрессина и коцептина в пробах мочи у пациентов с SIADH.

Расчет отношения концентраций катионов (Na^+/K^+) в сыворотке крови у исследуемых групп показал, что Na^+/K^+ отношение у здоровых детей составляет 30. У пациентов с МВ, ПЦД, ВП оно было статистически значимо выше. Приведенные данные показали, что имеются однонаправленное изменение Na^+/K^+ отношения, его повышение при разных формах заболеваний. Диагностическое значение Na^+/K^+ коэффициента клинически зависит от сдвига каждого из этих компонентов, включая компенсаторной сдвиг концентрации катионов при изменении концентрации парного иона.

Автором диссертации А.В. Нистаровой впервые 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

В 4 главе «Обсуждение результатов» (стр. 92-100) представлен анализ полученных данных, сопоставленный с данными литературы.

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. 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.

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, автором 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.

Результаты проведенного исследования имеют значение для обсуждения общего вопроса оценки результатов лабораторной диагностики – необходимость анализировать величины концентрации катионов в сыворотке крови у детей сравниваемых групп не только изолированно, но и в их отношении между собой. Концентрация ионов Na^+ и 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 Na^+ и внутриклеточным катионом K^+ может рассматриваться в клинической практике как один из интегральных параметров состояния системы водно-солевого гомеостаза.

Апробация и внедрение в практику результатов исследования

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

Результаты диссертационной работы Нистаровой А.В. доложены и широко обсуждены на Всероссийских и международных конгрессах.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертации Нистаровой А.В. 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.

Результаты диссертации Нистаровой А.В. могут быть рекомендованы для внедрения в клиническую работу врачей педиатрических отделений стационара, а также в амбулаторную службу при диспансерном наблюдении за педиатрическими пациентами с разными формами патологии легких, почек.

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

Автореферат отражает основные положения и результаты диссертационного исследования, оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ.

В тексте диссертации и автореферата имеются отдельные стилистические погрешности, которые не снижают научно-практическую ценность диссертации.

При анализе результатов диссертации возникли вопросы:

1. Критерии оценки нарушений водно-солевого обмена при их терапевтической коррекции у детей с муковисцидозом?
2. Патогенетическое обоснование динамического контроля Na^+/K^+ -отношения в сыворотке крови у детей как симптома предвестника ухудшения состояния пациентов?

Заключение

Диссертационная работа Нистаровой Анастасии Витальевны «Водно-солевой обмен и функциональное состояние почек при муковисцидозе у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.21. - Педиатрия, 1.5.5. – Физиология человека и животных, выполненная под руководством доктора медицинских наук, доцента Кузнецовой Аллы Александровны и академика РАН, доктора биологических наук, профессора Наточина Юрия Викторовича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная задача по

