

**МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**



**МУКОВИСЦИДОЗ В РОССИИ
(20 лет Российскому центру муковисцидоза)**

**По материалам X Национального конгресса
«МУКОВИСЦИДОЗ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ»
1-2 июня 2011, Ярославль**

Лучше дышать!
Меньше болеть!
Легче жить!

Уникальный муколитик для базисной терапии муковисцидоза

- Достоверно улучшает функцию внешнего дыхания¹
- Снижает риск возникновения инфекции дыхательных путей¹
- Уменьшает воспаление слизистой оболочки бронхов²
- Снижает обсемененность мокроты *St.aureus* и *Ps.aeruginosa*³

Показания: Симптоматическая терапия в комбинации со стандартной терапией муковисцидоза у пациентов с показателем ФЖЕЛ не менее 40% от нормы. Пульмозим может применяться для лечения больных некоторыми хроническими заболеваниями легких (бронхоэктатическая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких, врожденный порок развития легких у детей, хронические пневмонии, иммунодефицитные состояния, протекающие с поражением легких и др.), если по оценке врача муколитическое действие дорназы альфа обеспечивает преимущества для пациентов. **Противопоказания:** Повышенная чувствительность к действующему веществу препарата или его компонентам. **С осторожностью:** Беременность, период кормления грудью. Дети до 5 лет. **Способ применения и дозы:** 2,5 мг дорназы альфа (соответствует содержанию 1 ампулы) один раз в сутки, ингаляционно, без разведения, с помощью джет-небулайзера. **Условия хранения:** Список Б. Хранить при температуре 2-8°C, в защищенном от света и недоступном для детей месте. Подробная информация изложена в инструкции по медицинскому применению препарата Пульмозим. РУ П N014614/01 от 23.08.2010.

¹ J. M. Quan et al. Journal of pediatrics. 2001; 139: 813-820

² K. Paul et al. Am J Respir Crit Care Med 2004, vol.169: 719-725

³ Капранов Н.И. и др. Муковисцидоз. Методические рекомендации. Москва, 2005

 **Пульмозим**
дорназа альфа

ЗАО «Рош-Москва»
Официальный дистрибьютор
«Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд.» (Швейцария)
Россия, 107031 Москва
Трубная площадь, дом 2
Бизнес-центр «Неглинная Плаза»
Тел.: +7 (495) 229-29-99
Факс: +7 (495) 229-79-99
www.roche.ru



**МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

**МУКОВИСЦИДОЗ В РОССИИ
(20 лет Российскому центру муковисцидоза)**

**По материалам
X Национального конгресса
«МУКОВИСЦИДОЗ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ»,
1-2 июня 2011, Ярославль.**

© Все права защищены. Любое использование информации из этого сборника
возможно только с письменного разрешения правообладателя.

Современные аспекты муковисцидоза	6
Система пищеварения при муковисцидозе – терапия наиболее важных патологических состояний	16
К вопросу о неонатальном скрининге на муковисцидоз в РФ	26
Оценка эффективности программы неонатального скрининга новорожденных на муковисцидоз в городе Москве	32
Обследование мужчин с классической и генитальной формой муковисцидоза	42
Остеопороз, частота деформаций позвонков и периферических переломов, уровень костных биохимических маркеров и витамина D у взрослых больных муковисцидозом	52
Особенности микрофлоры нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей больных муковисцидозом	64
Возрастные изменения ионного состава плазмы крови и эритроцитов, антиоксидантной активности и протеазно-антипротеазного баланса у больных с муковисцидозом	72
Метод консервативной терапии хронического синусита у детей с муковисцидозом	80
Переносимость физической нагрузки детьми с муковисцидозом	86
Некоторые аспекты поражения органов дыхания и желудочно-кишечного тракта при муковисцидозе у детей	94
Структура и антибиотикорезистентность микрофлоры кишечника у пациентов с муковисцидозом в Самарской области	98
Анализ состояния микрофлоры дыхательных путей при муковисцидозе в Оренбуржье	101
Клинико-генотипический полиморфизм и профилактика муковисцидоза в популяции республики Молдова	104
К 70-летию юбилею Н.И. Капанова	112

К 20-ТИ ЛЕТИЮ НКО МУКОВИСЦИДОЗА МГНЦ РАМН



Немногим более 20 лет назад Институт медицинской генетики АМН СССР был преобразован в Медико-генетический научный центр, состоявший из двух Институты: Института генетики человека, директором которого был выбран профессор С.С. Шишкин и Института клинической генетики с директором профессором Е.К. Гинтером.

Создание Института клинической генетики потребовало расширение исследований в области клинической генетики, и для этого было решено создать модель такого подразделения. И.о. министра здравоохранения СССР проф. Баранов А.А. выделил специально для Медико-генетического научного центра довольно большое количество клинических ставок. В это же время руководство Института клинической генетики, учитывая, что в Институте уже имеется небольшой опыт молекулярно-генетического изучения муковисцидоза, приглашает проф. Н.И. Капранова возглавить Научно-клиническое отделение муковисцидоза и вместе с дирекцией Центра и Института приступить к его созданию в физическом смысле, т.е. найти клиническую базу и сотрудников. Поиски в этих двух направлениях шли одновременно и завершились тоже практически одновременно. В качестве клинической базы было выбрано отделение медицинской генетики РДКБ, главным врачом которой в то время был Дроздов В.В. Первыми научными сотрудниками и врачами НКО муковисцидоза были Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Симонова О.И., Шабалова Л.А., Моин Д.А., Воронкова А.Ю., Углицких А.К. Два направления работы отделения сделали его по праву Российским центром по лечению и реабилитации больных муковисцидозом МЗ РФ. Первое – это постоянное внедрение всего нового, что появляется в лечении больных муковисцидозом и профилактике, т.е. генетике этого заболевания (в развитии этого направления особую роль сыграл Крисс Ролс, в то время (1993–1998 г.г.) главный педиатр госпиталя Саутгемптонского университета. А второе – это активное распространение своего опыта на территорию практически всей России, что иногда приводит к появлению весьма квалифицированных межрегиональных и региональных центров муковисцидоза. Организация ежегодных конференций – еще одна положительная черта в работе НКО, как и сотрудничество с родительскими организациями. Сотрудники НКО муковисцидоза активно защищают и руководят кандидатскими и докторскими диссертациями. За 20 лет их защищено: 19 кандидатских и 8 докторских.

Желаю, чтобы энтузиазм и восприятие нового сохранялись в НКО и служили залогом дальнейших успехов в помощи больным и их семьям.

Директор МГНЦ РАМН

академик РАМН, профессор Е.К. Гинтер



Почетный гость Наина Ельцина с первыми больными муковисцидозом, администрацией РДКБ и коллективом Российского центра муковисцидоза, 1992 г.

Введение

Научно-клинический отдел муковисцидоза МГНЦ РАМН был создан в 1990 году на базе Российской детской клинической больницы. Отдел координирует работу региональных центров как Российский центр муковисцидоза согласно Приказу Минздрава от 1990 и 1993 годов. В 2003 году организовано Московское отделение Российского центра муковисцидоза на базе Детской городской клинической больницы №13 им. Н.Ф.Филатова, где осуществляется активное диспансерное наблюдение больных из Москвы, Московской области и близлежащих регионов РФ. Наряду с большой практической работой сотрудники отдела ведут научные исследования, большая часть которых отражена в кандидатских (19) и докторских (8) диссертациях.

Сотрудники научно-клинического отдела обеспечивают научную разработку эффективных методов диагностики, лечения и реабилитации больных муковисцидозом, и осуществляют практическое консультирование (диагностика, лечение муковисцидоза) на базе отделения медицинской генетики Российской детской клинической больницы Росздрава (Российский центр муковисцидоза) и поликлинического отделения Детской городской клинической больницы №13 им. Н.Ф.Филатова (Московское отделение Российского центра муковисцидоза).

Научная деятельность

Научная деятельность направлена на совершенствование комплексной программы по диагностике, лечению, реабилитации и профилактике муковисцидоза. Для России создание и реализация подобной программы способствует улучшению ранней диагностики муковисцидоза, включая дородовую диагностику и неонатальный скрининг, а также своевременной, адекватной лечебно-реабилитационной и медико-социальной помощи больным муковисцидозом и их семьям.

В организации помощи данному контингенту больных совершенно необходимо располагать данными о частоте МВ в РФ в целом, а также в разных субъектах федерации. Этому, наряду с другими важными задачами способствует внедрение в Национальный проект «Здоровье» Федеральной программы обязательного неонатального скрининга на наследственные заболевания, включая муковисцидоз, с 2007 г. Полученные результаты за 2007–2011 годы свидетельствуют о значительном региональном различии (от 1:2500 до 1:17000, в среднем по РФ – 1:10 000 новорожденных), что диктует необходимость продолжения программы.



Коллектив н.к.о. муковисцидоза МГНЦ РАМН (ДГКБ №13 им. Н.Ф.Филатова), 2011 год. Слева направо, первый ряд: Шерман В.Д., Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Милохова А.С. Второй ряд: Герасимова В.А., Кусова З.А., Никонова В.С., Жекайте Е.К., Шабалова Л.А.

Как Российский центр диагностики и лечения муковисцидоза научно-клинический отдел разрабатывает, научно обосновывает и совершенствует диагностику муковисцидоза, как лабораторную, включая неонатальный скрининг, так и клиническую; продолжает организацию новых региональных центров с налаживанием активного диспансерного наблюдения больных; внедряет единый регистр и программы систе-

мы подготовки врачей и медсестер, обеспечивающих лечение больных муковисцидозом. Плановая и систематическая просветительная работа ведется среди родителей, учителей, воспитателей, т.е. тех, кто находится в первичном контакте с больными детьми. Организация и проведение региональных конференций и семинаров, посвященных проблеме муковисцидоза, а также Национальных конгрессов по муковисцидозу (последний Юбилейный 10 Национальный конгресс по муковисцидозу состоялся 1-2 июня 2011 года «Муковисцидоз у детей и взрослых» в г. Ярославле). Сотрудничество с международными организациями и медицинскими центрами, занимающимися проблемой муковисцидоза.

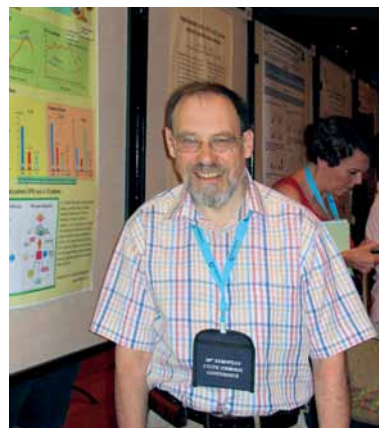


Коллектив отделения медицинской генетики РДКБ, 2011 год. Слева направо: Макарова Д.А., Авакян Л.В., Передерко Л.В., Воронкова А.Ю., Семькин С.Ю.

Научно-клиническим отделом совместно с сотрудниками НИИ Пульмонологии ФМБА России создана компьютерная программа Российского регистра пациентов с МВ, которая сейчас адаптируется к программе Европейского регистра по МВ, что будет иметь важное значение как для больных МВ в нашей стране, так и, в целом в Европе, способствуя совершенствованию оказания медико-социальной помощи данному контингенту больных.

В рамках научного направления «Совершенствование программ диагностики, лечения, научной и медико-социальной адаптации больных муковисцидозом» выполнен ряд рабочих фрагментов:

- а)** научно обоснована клиническая эффективность и безопасность применения микросферического панкреатического фермента Креон у детей, больных смешанной и кишечной формами муковисцидоза, что позволило включить Креон в стандарты лечения муковисцидоза в РФ.
- б)** изучена частота и характер поражения гепато-билиарной системы у детей, больных муковисцидозом, его связь с типами мутаций, возможными модифицирующими генами и коррекция этих нарушений урсодезоксихолевой кислотой (в 2000 году работа была отмечена премией ECFS – European Cystic Fibrosis Society, впервые в истории СССР и РФ).
- в)** в течение ряда лет ведется большая работа по изучению эффективности и безопасности противовоспалительных средств при лечении больных муковисцидозом (МВ) с хронической синегнойной инфекцией: изучена роль субтерапевтических доз макролидов (азитромицин, кларитромицин) и их безопасность при длительном (в течение ряда лет) лечении; выявлено значение альтернирующих курсов преднизолона в дозе 0,3-0,5 мг/кг и ряда ингаляционных кортикостероидов отдельно или в сочетании с пролонгированными бронхолитиками (пульмикорт, серетид, симбикорт); изучена клиническая эф-



Пухальский А.Л. с постерным докладом на Европейском конгрессе по МВ, Турция, 2007г.



Коллектив н.к.о. муковисцидоза МГНЦ РАМН, 2001 год. Слева направо: Шерман В.Д. (Толстова), Агеева Н.И., Капранов Н.И., Воронкова А.Ю., Каширская Н.Ю. и психолог

фективность и безопасность Дорназы-альфа (Пульмозима) в лечении детей, больных МВ.

г) постоянно накапливается опыт по изучению генетических особенностей МВ в РФ, возможностей ДНК диагностики в клинике и по программе «неонатального скрининга»; проведена оценка эффективности программы массового обследования новорожденных на

МВ в России, на примере г. Москвы; изучается роль генов модифицирующих клинического проявления и течение МВ у детей: установлено отличие характера и частоты мажорных мутаций в гене MBTR, что позволило создать диагностическую панель для эффективной ДНК диагностики МВ в нашей стране; выявлен ряд новых мутаций в данном гене и описан ряд мутаций, ранее не встречающихся в РФ; определена роль ряда модифицирующих генов в клиническом разнообразии МВ и целесообразность разработки новых терапевтических подходов.

д) впервые в России проведено комплексное исследование функционального состояния почек у детей, больных МВ, позволившее установить частоту и характер их поражения, а так же взаимосвязь с различными степенями тяжести течения заболевания.

е) впервые в нашей стране проведены фармакоэкономические исследования по разным подходам к оказанию лечебно-реабилитационной помощи детям с МВ. Показано, что лечение в амбулаторных условиях (включая дневной стационар) и/или домашних условиях при явных психологических и медицинских преимуществах имеет и значительный экономический эффект.

ж) нами были проведены сравнительные исследования по диагностической ценности (по заданию МЗ и СР РФ) ряда потовых анализаторов («Макродакт», «Нанодакт», США и Санасол, Венгрия), которые удешевляют, упрощают проведение потового теста – золотого стандарта» прижизненной диагностики МВ. Полученные объективные, убедительные результаты преимущества «Нанодакта», позволили научно обосновать целесообразность централизованной закупки этих аппаратов в рамках программы Неонатального скрининга МЗ СР РФ для всех регионов РФ.

з) Впервые в нашей стране изучена роль анаэробной инфекции в хронической бронхолегочной патологии при муковисцидозе, доказана возможность ее лабораторной диагностики и разработаны терапевтические подходы.

Наряду с этим активно проводится регулярный микробиологический мониторинг бронхолегочного секрета у детей, больных МВ, Москвы и Московской области (посев мокроты на микрофлору и чувствительность к антибиотикам, каждые 3 мес. С последующей консультацией). Это позволяет оперативно решать вопросы рациональной антибактериальной терапии больных данного контингента.

д) Сотрудниками отдела внедрены в практику в Московском регионе стационарозамещающие технологии – внутривенная антибактериальная терапия на дому, а также активное диспансерное наблюдение больных муковисцидозом.

Изучение проблемы муковисцидоза будет продолжено по ряду основных направлений и в будущем: генетика, иммунология, микробиология, диагностика, лечение и реабилитация больных. Недавно созданная ООО «Всероссийская ассоциация для больных муковисцидозом», поможет координировать усилия ученых, специалистов, врачей, родительской ассоциации, общественных организаций, концентрировать материальные средства с целью их рационального расходования.



Делегация из Германии во главе с г-ном М. Херцогом вручает потовые анализаторы представителям центров муковисцидоза: Москва (центр для взрослых), Челябинск, Уфа, Оренбург, 2006 г.

Практическая деятельность

Муковисцидоз – одно из наиболее частых моногенных наследственных заболеваний с полиорганной патологией, требующее комплексного лечения в течение всей жизни больного.

В настоящее время налаживается дородовая диагностика муковисцидоза в перспективных и информативных семьях (Москва, Санкт-Петербург, Уфа, Томск, Красноярск, Ростов на Дону, Владивосток и некоторые другие), что, безусловно, важно для профилактики этой тяжелой патологии.

Основным преимуществом, которое дает неонатальный скрининг, безусловно, является ранняя диагностика МВ и возможность контролировать с первых месяцев жизни течение заболевания и развитие его осложнений, что при адекватном лечении позволяет существенно продлевать и улучшать качество жизни больных данного контингента.

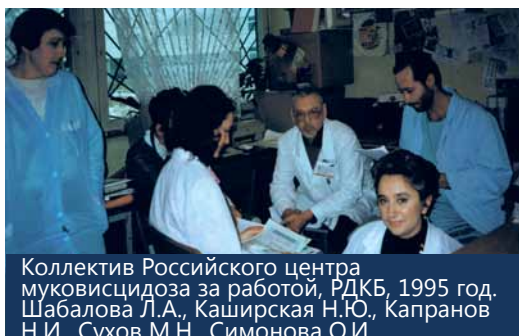
Важным разделом работы является создание сети региональных центров диагностики и лечения муковисцидоза (для детей и взрослых), а также их сотрудничество с родительскими ассоциациями.

а) Диагностика муковисцидоза

1. В научно-клиническом отделе муковисцидоза, который является, согласно приказа Министерства здравоохранения РФ, Российским центром муковисцидоза, и одновременно выполняя функцию его Московского отделения, проводится клиническая диагностика муковисцидоза среди детей с положительным неонатальным скринингом на муковисцидоз, среди больных с бронхолегочной и гастроинтестинальной патологией.
2. Для подтверждения диагноза проводится потовый тест.
3. ДНК-диагностика муковисцидоза, включая пренатальную, проводится в лаборатории генетической эпидемиологии, руководимой профессором Зинченко Р.А.

б) Ведение больных муковисцидозом

1. Активное диспансерное наблюдение включает регулярное, как правило, 1 раз в 3 месяца, консультирование каждого больного в центре с целью коррекции проводимой терапии, решения вопроса о целесообразности госпитализации или возможности проведения внутривенной антибактериальной терапии на дому – современной технологии, позволяющей в несколько раз снизить стоимость услуг по сравнению с лечением в стационаре.



Коллектив Российского центра муковисцидоза за работой, РДКБ, 1995 год. Шабалова Л.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Сухов М.Н., Симонова О.И.

2. Исследование функции внешнего дыхания позволяет объективно оценивать общее состояние больного и особенно бронхолегочной системы, темпы прогрессирования изменений в легких, а также эффективность проводимого лечения (антибиотики, муколитики, кинезитерапия и другие).

3. Кинезитерапия и лечебная физкультура – малозатратные, но

очень важные компоненты лечения больных смешанной и преимущественно легочной формой заболевания, которым специалист научно-клинического отдела обучает родителей и/или самих детей.

- 4.** Стационарное лечение больных осуществляется на базе медико-генетического отделения Российской детской клинической больницы Росздрава. Используются современные схемы терапии обострений бронхолегочного процесса с введением антибактериальных препаратов только через периферические внутривенные катетеры. При необходимости, совместно с сотрудниками отделений микрососудистой хирургии, эндоскопии, оториноларингологии, торакального и другими, проводятся различные высокотехнологичные манипуляции и хирургические вмешательства.

в) Обмен опытом

- 1.** Сотрудники научно-клинического отдела муковисцидоза, регулярно выезжая в регионы России (1 – 2 раза в месяц), читают лекции, проводят круглые столы, семинары, практические занятия с врачами и родителями больных муковисцидозом, а также встречаются с представителями администраций регионов для решения вопросов бесплатного лекарственного обеспечения данных больных жизненно необходимыми медикаментами.
- 2.** На базе научно-клинического отдела муковисцидоза проходят обучение на рабочих местах специалисты уже созданных региональных центров или планируемых, во время которого, они знакомятся с современными проблемами муковисцидоза, методами диагностики, лечения, реабилитации и медико-социальной адаптации больных и их семей.
- 3.** На базе научно-клинического отдела муковисцидоза проходили и проходят обучение специалисты из центров муковисцидоза стран СНГ (Казахстан, Белоруссия, Молдавия, Азербайджан, Украина, Армения) и Западной Европы (Великобритания, Германия). Сотрудники научно-клинического отдела регулярно участвуют в международных конгрессах и конференциях (Европейское респираторное общество, Европейское общество муковисцидоза, Североамериканская Ассоциация помощи больным муковисцидозом, Европейская ассоциация гастроэнтерологов и гепатологов).
- 4.** Научно-клиническим отделом совместно с сотрудниками НИИ Пульмонологии ФМБА России создана компьютерная программа Российского регистра пациентов с МВ, которая сейчас адаптируется к программе Европейского регистра по МВ, что будет иметь важное значение как для больных МВ в нашей стране, так и, в целом в Европе, способствуя совершенствованию оказания медико-социальной помощи данному контингенту больных.

5. Постоянно ведется работа по обновлению информации, помещению научных и медицинских новостей в области муковисцидоза, ответам на вопросы на сайте www.mucoviscidos.ru и www.cf-rf.ru.



Обмен опытом, г. Саутгемптон (Великобритания), 1993 год. Иллангован П., Хилл К., Роллз К., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Углицких А.К.

Сотрудничество

В 1993 году научно-клинический отдел муковисцидоза и отделение медицинской генетики РДКБ начали активное сотрудничество с учеными ряда стран Западной Европы (Франция, Бельгия, Италия, Германия, Англия). Наиболее значимым следует признать многолетнее взаимовыгодное сотрудничество с Саутгемптонским Университетом и Госпиталем (профессор Дж.Уорнер, доктора: Крис Роллс, Прия Иллангован, Кэти Хилл и др...). Результатом этого сотрудничества явилась активизация работы врачей, специалистов, ученых России по созданию (по образцу Великобритании) региональных центров МВ, сеть которых в настоящее время достигла 50. Кроме того, созданная модель сотрудничества Запад-Восток явилась примером и для других нозологий и специалистов (хирурги и эндокринологи РДКБ, психиатры НЦПЗ РАМН). Более того, наши коллеги из Англии «научили» нас грамотному сотрудничеству с фармакологическими фирмами, которое во многом, стало образцом для других российских научных учреждений и больниц, как в Москве и Санкт-Петербурге, так и ряде регионов (Новосибирск, Омск и др.).

В настоящее время мы поддерживаем тесную связь с учеными и врачами многих стран мира. Так в работе последнего Национального конгресса по муковисцидозу в г.Ярославле (1-2 июня 2011г.) участвовали врачи из стран Союзных государств: Молдовы, Украины, Армении, Беларуси, Казахстана и Узбекистана, а также из дальнего зарубежья: Германия и Израиль (Prof. Eitan Kerem и Prof. Batsheva Kerem, Dr. Olaf Sommerburg).

Нельзя недооценивать сотрудничества и с родительскими ассоциациями и фондами помощи больным муковисцидозом, причем тоже, как с Российскими, так и с зарубежными. Без их непосредственного участия многие вопросы организации помощи больным муковисцидозом в России могли остаться нерешенными до сих пор.

Контакты

1. **администрация** – 115478, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1. Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Медико-генетический научный центр» РАМН;
1. **клинические базы:**
 - Московское отделение Российского центра муковисцидоза – поликлиническое отделение, Детская городская клиническая больница N13 им. Н.Ф.Филатова, Садово-Кудринская улица, д.15., г. Москва, Россия, 103001. Тел./факс: (8499) 254-90-49;
 - стационар – отделение медицинской генетики Российской детской клинической больницы Министерства здравоохранения и социального развития РФ, Ленинский проспект, д. 117, г. Москва, Россия, 117513. Телефон: (8499) 936-93-33, 936-91-33, 936-94-97.
 - **e-mail:** russia-cf@mail.ru
 - **Интернет сайт:** www.mucoviscidos.ru, www.cf-rf.ru

Капранов Н.И.

**Учреждение Российской академии медицинских наук
Медико-генетический научный центр РАМН, Москва**

Муковисцидоз (МВ, кистозный фиброз) – наследственное заболевание, характеризующееся полиорганными нарушениями, с преимущественным поражением бронхолегочной и пищеварительной систем. МВ – обусловлен мутациями в гене CFTR: муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости. В последние годы в развитых странах достигнут существенный прогресс в терапии больных МВ, что позволило перевести это заболевание из абсолютно летальной патологии детского возраста в разряд хронических болезней взрослых. Это стало возможным благодаря ранней диагностике и правильной организации медицинской помощи. В настоящее время описано около 2000 мутаций в гене CFTR, причем их частота и спектр широко варьируют у разных этнических групп и популяций. Например, в Ирландии частота МВ составляет 1 : 1800 новорожденных, а в Финляндии – 1 : 26000 [1].

В России ранняя диагностика существенно улучшилась благодаря внедрению в 2006 году программы обязательного скрининга новорожденных на МВ. По данным МЗ и СР РФ к концу 2010 года в РФ на муковисцидоз было обследовано 5 млн 903 тыс. новорожденных и у 582 диагноз был подтвержден, что говорит о средней частоте заболевания 1 : 10 498. При этом частота возникновения МВ в различных регионах России варьирует от 1 : 8507 до 1 : 12 972. Следует отметить, что не всем детям с повторными высокими значениями ИРТ проводятся потовые пробы, т.к. по разным причинам родители отказываются от данного исследования (до 25% по разным регионам) [2]. Таким образом, истинная частота МВ в России значительно выше, указанного значения.

Новорожденным с МВ, выявленным при неонатальном скрининге, современная адекватная терапия назначается раньше, чем больным, диагностированным на основании клинических симптомов, что дает возможность улучшить качество жизни и продлить ее. Неонатальный скрининг предполагает и возможность раннего генетического консультирования, до зачатия следующего ребенка, что сможет повлиять на репродуктивное поведение супругов и их родственников с сохраненными детородными функциями. Так, например, было показано, что со времени введения скрининговой программы в провинции Бретань во Франции произошло снижение частоты МВ среди новорожденных, по разным оценкам, на 15–30%. Кроме того, неонатальный скрининг позволяет снизить стресс родителей больного ребенка, связанный с отложенным диагнозом [2, 3].

В нашем центре совместно с Н.В.Петровой изучен спектр и относительная частота мутаций в гене CFTR. В обширной выборке российских больных МВ (776 индивидов) из разных регионов, что позволило отнести к диагностически значимым мутациям: F508del (54,2%), CFTRdele2,3(21kb) (7,2%), 2143delT (2,1%), W1282X (2,0%), N1303K (1,9%), 3849+10kbC-T (1,9%), 2184insA (1,7%), G542X (1,3%), 1677delTA (0,8%), 3821delT (0,8%), R334W (0,7%), L138ins (0,6%) и 394delTT (0,5%). Доля не охарактеризованных мутаций составила 23%. Различия спектров мутаций и частоты заболевания вносит определенные сложности в разработку протоколов ДНК-диагностики МВ и генетического консультирования среди населения, относящегося к разным этническим группам и проживающего в разных регионах.

Продолжительность жизни, спектр и тяжесть клинических проявлений значительно варьирует среди больных МВ. И хотя вариабельность клинического течения МВ несомненно обусловлена многочисленностью генотипов, но различие в течении муковисцидоза, наблюдающееся у больных, имеющих одинаковые мутации, в частности, у сибсов, предполагает влияние на клиническую картину МВ других генетических факторов, отличных от гена CFTR (кандидатных генов, модифицирующих характер и степень поражения ряда жизненно важных органов) [3, 4, 5].

Целью комплексного лечения МВ является своевременная и адекватная коррекция нарушений функции жизненно важных органов – прежде всего систем дыхания и пищеварения. Особое внимание уделяется поражению бронхолегочной системы [1, 3, 6]. Довольно часто пациенты с не диагностированным МВ получают симптоматическое лечение одного из проявлений заболевания, что не приводит к улучшению состояния. В связи с этим одной из наиболее важных задач является дифференциальная диагностика МВ у детей младшего возраста, часто болеющих пневмониями и другими респираторными заболеваниями.

План ведения больных МВ предусматривает их активное диспансерное наблюдение, лекарственное обеспечение и лечебно реабилитационные мероприятия с внедрением современных технологий. При правильной организации лечебного процесса ведение многих больных МВ может осуществляться амбулаторно, без нарушения их обычного образа жизни [6].

К сожалению, в настоящее время оказание медицинской помощи больным МВ в нашей стране остается на низком уровне в большинстве регионов, а квалифицированная помощь больным старше 18 лет оказывается фактически в двух центрах РФ, один из которых находится в Москве, а другой в Санкт-Петербурге. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано и получают лечение более 2200 больных МВ. Назрела необходимость создать многоуровневую структуру, состоящую из федеральных, межрегиональных (региональных) и окружных центров диагностики и лечения МВ. Они должны базироваться в многопрофильных, хорошо оснащенных больницах с боксированными отделениями для полной сегрегации больных, и иметь специализированный штат сотрудников, включая педиатров/терапевтов (пульмонолога и/или гастроэнтеролога), кинезитерапевтов, диетологов, психологов, а также все жизненно важные лекарственные средства и оборудование [6].

Лекарственное обеспечение в настоящее время осуществляется в недостаточном объеме и не систематически, как в подавляющем большинстве стационаров, так и в амбулаторных условиях. На данный момент лечение МВ регламентируется двумя стандартами: Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 703 от 14 ноября 2007 г. (амбулаторная помощь взрослым и детям) и Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации № 841 от 13 декабря 2006 г. (стационарное лечение – только дети). Данные стандарты не отражают изменений в терапевтических подходах, произошедших в последнее время в развитых странах. Помимо стандартов лечения, обеспечение больных МВ осуществляется по программе «7 нозологий» (муковисцидоз, гипопизарный нанизм, болезнь Гоше, миелолейкоз, рассеянный склероз, после трансплантации органов и (или) тканей) по Распоряжению Правительства РФ (от 2 октября 2007г. № 1328-р), которая, в настоящее время предусматривает только один препарат – Дорназа альфа. Хотя обеспечение больных МВ этим жизненно необходимым препаратом явило собой прорыв в их лечении.

Программа не предусматривает обеспечение больных данного контингента другими, не менее важными препаратами – заместительными пищеварительными ферментами (Креон 10000, 25000; Эрмитель 10000, 25000) и эффективными антисинегнойными антибиотиками, включая ингаляционные тобрамицины (БрамитоБ, ТОБИ) и колистиметат натрия (Колистин), гепатотропными средствами, витаминами [7].

В последние годы были достигнуты значительные успехи в разработке и внедрении эффективных биотехнологических (в том числе генноинженерных) и фармакологических средств, направленных на коррекцию этиопатогенетических дефектов при МВ. Муковисцидоз стал одним из первых заболеваний, при которых стала реализовываться генотерапия. Однако в связи с дозозависимой воспалительной и иммунологической реакцией больных МВ на вводимые векторы (аденовирусы, ретровирусы и др.) генотерапия требует дальнейшего совершенствования, и эти разработки продолжаются в Великобритании, Франции, Северной Америке. Из за трудностей генотерапии акцент в современном лечении МВ смещен в сторону разработки новых лекарственных препаратов: корригирующих дефектный белок CFTR, противовоспалительных, антимикробных, муколитических, ферментных, гепатотропных и др.

Необходимо принять ряд неотложных мер для совершенствования ранней диагностики МВ, улучшения медицинской помощи и лекарственного обеспечения больных МВ в России, а именно:

- создать многоуровневую структуру центров диагностики и лечения больных МВ, включающую головной (Российский центр муковисцидоза) с подчиненными ему тремя федеральными (г. Москва, г. Санкт Петербург, г. Томск), 8 окружными (Центральный, Северо Западный, Южный, Приволжский, Уральский, Сибирский, Северо Кавказский, Дальневосточный) и межрегиональными (региональными) центрами;

- утвердить приказом Минздравсоцразвития РФ вышеуказанную структуру диагностических и лечебно реабилитационных центров МВ, оснащенных необходимым современным оборудованием;

- обеспечить поддержку (приказ/письмо) Минздравсоцразвития РФ заполнения «Регистра пациентов с муковисцидозом», разработанный МГНЦ РАМН и НИИ Пульмонологии ФМБА), во всех субъектах РФ с сохранением ответственности по учету и анализу данных регистра за Российским центром муковисцидоза;

- продолжить разработку с последующим внедрением новых стандартов по оказанию медицинской помощи больным МВ в стационаре и амбулаторных условиях, плана ведения больных МВ (от выявленных при неонатальном скрининге в доклиническом периоде до больных зрелого возраста и беременных женщин);

- разработать и утвердить федеральную целевую программу диагностики, лечения и социальной помощи больным муковисцидозом с обязательным обеспечением жизненно необходимым оборудованием (ингаляторы, концентраторы кислорода, аппаратура для кинезитерапии и т.д.), лечебным питанием и лекарственными средствами (муколитики, бронхолитики, пищеварительные ферменты, витамины, гепатопротекторы и антибиотики, включая ингаляционные) всех больных МВ нашей страны.

В настоящее время в России создана Общероссийская общественная организация «Всероссийская ассоциация для больных муковисцидозом», которая будет координировать усилия ученых, врачей, общественных организаций, концентрировать материальные средства с целью их рационального расходования на проведение конференций, образовательную и издательскую деятельность.

Вышеизложенное позволит приблизить медико-социальную помощь больным муковисцидозом и нашей стране к ее уровню в развитых странах.

Литература

1. Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы. Методические рекомендации. Издание третье (первое 2001) переработанное и дополненное. Под редакцией Капранова Н.И., Каширской Н.Ю. М.: ООО «4ТЕ Арт». 2008. – с.124.
2. Толстова В.Д., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Массовый скрининг новорожденных на муковисцидоз в России. Фарматека. – 2008. – №1. – С.1-5.
3. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Толстова В.Д. Муковисцидоз. Ребенок и лекарство. Справочное пособие для детских врачей (издание второе). Редактор Царегородцев А.Д. Том 2 Фармакотерапия в педиатрии. – Москва, Издательство «Оверлей» 2008, – с.608, ил. Глава 35. С.536-552.
4. Тимковская, Е.Е. Исследование взаимосвязи CFTR генотипа и клинических проявлений у больных муковисцидозом // Детская больница. – 2008. – № 8. – С. 8-11
5. Петрова, Н. В. Изучение взаимосвязи CFTR-генотипа и фенотипа у российских больных муковисцидозом // Медицинская генетика. – 2007. – Т. 6. – № 12 – С. 22-29.
6. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. Проблемы организации и совершенствования медицинской и социальной помощи больным муковисцидозом в России на современном этапе // Лечебное дело. – №2. – 2010. – С.12-17

Каширская Н.Ю., Шерман В.Д., Кусова З.А., Капранов Н.И.

МГНЦ РАМН, г. Москва

Введение

МУКОВИСЦИДОЗ (МВ) – наиболее частое из моногенно наследуемых заболеваний среди европеоидов. Заболевание обусловлено мутациями в гене *CFTR*, муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости. Белок *CFTR*, функционируя как цАМФ-зависимый хлорный канал, регулирует работу других хлорных и натриевых каналов, участвует в проведении воды и АТФ и выполняет ряд других важных функций [1]. В связи с неспособностью дефектного белка адекватно выполнять работу хлорного канала в клетке накапливаются ионы Cl^- , и внутрь клетки устремляются ионы натрия. Последние в свою очередь выполняют роль насоса, что обуславливает усиленное всасывание воды из околоклеточного пространства. В итоге секрет большинства желез внешней секреции стужается, затрудняется его эвакуация, в органах возникают вторичные изменения.

При этом заболевании в той или иной степени в патологический процесс вовлекается весь организм, но в большей степени – органы дыхания, поджелудочная железа, печень, желчные пути, желудочно-кишечный тракт, потовые железы и половые органы у мужчин

Определяющими для жизни больного являются характер и степень поражения легких, а также системы пищеварения, прежде всего – поджелудочной железы (ПЖ) и печени. Благодаря ранней диагностике и новейшим терапевтическим режимам, заболевание давно перестало быть чисто педиатрической проблемой. По данным зарубежных исследователей средняя продолжительность жизни больных МВ возросла с 15 лет (в 1970г) до 36–38 лет (в 2008г). В настоящий момент ожидаемая средняя продолжительность жизни больных, рожденных в 2007–2008 годах, приближается к 50 годам [2,3]. В РФ, к сожалению, средняя ожидаемая продолжительность жизни не так высока: в 1997 году была 16 лет, в 2001 году – 24 года, а в 2007 – 27 лет. По данным Российского регистра больных муковисцидозом средний возраст 1526 наблюдаемых в 2009 году больных составил 10,2 года (мин=0,09 лет, макс = 51,99 лет), в то время как средний возраст больных, наблюдаемых в экономически развитых странах Европы, составляет 18–21 год. В России 79% пациентов моложе 18 лет. Медиана возраста постановки на учет 7,2+/-0,43 года.

В настоящий момент описано около 2000 мутаций и более 200 полиморфизмов в гене *CFTR*, частоты которых широко варьируют в разных этнических группах. Установлена четкая зависимость между недостаточностью внешнесекреторной функции поджелудочной железы и мутациями в гене *CFTR*. Однако связь между другими проявлениями МВ и *CFTR* генотипом неоднозначна. В частности, течение бронхолегочного процесса, определяющее качество и продолжительность жизни больных МВ в 90% случаев, напрямую не зависит от *CFTR* генотипа. Считают, что за патологию желудочно-кишечного тракта отвечают модулирующий локус хромосомы 19q13 (*CFM1*) (мекониальный илеус), Ca^{2+} -активированный канал проводимости калия (*KCNN4*), маннозо-связывающий лектин (*MBL*), *AT-α1* [4]. Ряд авторов полагает, что риск развития поражения печени у больных МВ может зависеть от наличия: аллеля *DQw6* генов главного комплекса гистосовместимости, маннозо-связывающего лектина (*MBL2*), мутаций *Z* и *S* гена ингибитора протеаз (*AlAT*), аллельного варианта *TGF-β*.

Поражение поджелудочной железы

Патогенез

Панкреатическую недостаточность по данным различных авторов имеют 85–90% больных муковисцидозом. Поражение ПЖ выявляется уже в антенатальном периоде. У больных МВ из-за нарушенного анионного транспорта (основными анионами являются HCO_3^- и Cl^-) в белковый субстрат не поступает необходимого количества жидкости, он остается более вязким и скорость его продвижения замедляется. В связи с чем, белки преципитируются на стенках мелких выводных протоков, вызывая их обструкцию и полную закупорку. В результате, панкреатические ферменты, которые продолжают вырабатываться в ацинусах в обычном количестве, не достигают двенадцатиперстной кишки. Накопление активных ферментов приводит к аутолизису ткани поджелудочной железы. На более отдаленных стадиях этого процесса, часто уже на первом месяце жизни, тело поджелудочной железы представляет собой скопление кист и фиброзной ткани – отсюда другое название заболевания: «кистозный фиброз». Неминуемым следствием разрушения поджелудочной железы становится нарушение переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте, прежде всего жиров и белков. Помимо этого при муковисцидозе происходит нарушение выработки бикарбонатов. При отсутствии соответствующего лечения эти процессы приводят к задержке физического развития ребенка. Некоторые мутации гена МВ (IV и V класса) связаны с медленным развитием описанного выше хронического панкреатита и наличием сравнительно сохранной функции поджелудочной железы в течение многих лет. В старшем возрасте примерно у пятой части больных развивается инсулинозависимый сахарный диабет [7].

Коррекция панкреатической недостаточности

Больным МВ заместительная терапия должна проводиться только современными высокоактивными микрогранулированными препаратами с pH-чувствительной оболочкой. Эффективность этих препаратов определяется, во-первых, высокой степенью активности исходного субстрата (панкреатина), используемого для их производства, во-вторых, особой их формой (минимикросферы, микросферы и микротаблетки размером от 0,4 до 2,0 мм), обеспечивающей равномерное перемешивание с желудочным содержимым и синхронное с пищей прохождение в двенадцатиперстную кишку [8,9]. Кроме того, pH-чувствительная оболочка микросфер защищает панкреатин от разрушения в желудке. Сами гранулы помещены в pH-чувствительные капсулы, которые защищают микросферы от преждевременной активации в ротовой полости и пищеводе и облегчают прием препарата. Капсулы достигают желудка, где и растворяются, высвобождая микрогранулы. В двенадцатиперстной кишке, при значении pH около 5,5 растворяется оболочка микрогранул, и высокоактивные ферменты начинают свое действие [7,10].

Подбор доз панкреатических ферментов больным МВ осуществляется индивидуально. О достаточности дозы можно судить по клиническим (нормализация частоты и характера стула) и лабораторным показателям (идеально – исчезновение стеатореи и креатореи в копрограмме, нормализация концентрации триглицеридов в липидограмме стула). При подборе дозы ферментов можно пользоваться следующими рекомендациями, суммированными нами в таблице 1 [10,11,12].

Таблица 1. Рекомендации по подбору доз (ЕД по липазе) микросферических панкреатических ферментов для больных муковисцидозом

Дети грудного возраста	Дети старше 1 года
Около 2500-3300 ЕД на 120 мл молока (молочной смеси), что примерно равно 400-800 ЕД липазы на г жира в питании	2000 – 6000 ЕД/кг/сут Равноценно 500-4000 ЕД липазы на г жира в съедаемой пище
	500-1000 ЕД/кг на основной прием пищи
	250-500/ЕД/кг на дополнительный прием пищи
Дозы выше 3000 ЕД/кг в еду или 10 000 ЕД/кг в сутки говорят о необходимости дополнительного обследования ЖКТ у больного МВ	
Дозы выше 6000/кг в еду или 18 000 – 20 000 ЕД/кг в сутки угрожаемы по развитию крайне редкого, но грозного осложнения – фиброзирующая колонопатия	

Последние годы практически все больные в РФ получают препараты Креон 10000 или Креон 25000 фирмы Солвей фарма, теперь Эбботт (Германия), которые позволяют длительное время поддерживать нормальный физический статус нашим пациентам. Исключительность применения именно Креона объясняется его включением в список дополнительного лекарственного обеспечения (ДЛО) для отпуска по бесплатным рецептам больным муковисцидозом. Недавно появившаяся высокоактивная форма препарата Креон 40000 сможет позволить сократить количество капсул до 1-2, одновременно принимаемых больными с приемом пищи [13]. В дополнение ко всему Креон® – первый и пока единственный препарат ферментов поджелудочной железы зарегистрированный в России, одобренный Американским регулирующим ведомством (FDA) в соответствии с новыми правилами по перерегистрации любых продуктов на основе панкреатических ферментов [14].

На Российском фармацевтическом рынке в настоящее время имеется еще, как минимум – четыре, микросферических препарата: микротаблетки Панцитрат 10 000 и 25 000 (дистрибьютор в России – Бофур Ипсен, Франция); Микразим 10000 и 25000 ЕД (СТИ-МЕД-СОРБ, ОАО группа компаний ЛЕКСИРЬ ООО (сейчас АВВА РУС/СТИ-МЕД-СОРБ), Россия); Эрмитель, выпускаемый в трех формах 10000ЕД, 25000ЕД и 36000ЕД, фармацевтической компании Грюненталь (Германия); микропеллеты Панзинорм 10 000 (фирмы КРКА, Словения). Первый препарат ранее довольно широко применялся больными муковисцидозом, особенно взрослыми, и может считаться препаратом выбора у больных муковисцидозом. Проведенное нами в 2008 году мультицентровое исследование по клинической эффективности и безопасности Микразима выявило, что препарат обладал высокой частотой (26%) серьезных побочных явлений со стороны желудочно-кишечного тракта, потребовавших его отмены, и отсутствием эффективности еще у 14%. Поэтому он не был рекомендован к широкому применению у больных муковисцидозом. По препарату Эрмитель уже имеются положительные отзывы о кратковременном применении и, он может рассматриваться как препарат резерва при муковисцидозе. По клинической эффективности микропеллет Панзинорма у нас пока нет никаких собственных данных [12].

Диета

Использование микросферических ферментов позволяет рекомендовать больным с МВ высококалорийную диету с сохранением физиологической нормы жира.

Потребность в энергии у детей с МВ может быть повышена на 50 – 90% по сравнению с теоретическими расчетами на фактический вес, и на 20 – 50% по сравнению со здоровыми детьми соответствующего возраста и пола. Калорийность суточного рациона должна рассчитываться не на фактический, а на долженствующий вес.

В повседневной практике можно пользоваться следующими средними ориентирами для расчета необходимых дополнительных калорий (свыше рекомендуемых возрастных норм): 1-2-года – +200 ккал/сут, 3 – 5 лет + 400 ккал/сут, 6-11 лет – + 600 ккал/сут, старше 12 лет – + 800 – 1000 ккал/сут [3,10,11].

Витамины и микроэлементы

Показано, что при использовании указанных препаратов в адекватных дозах, жиры пищи практически полностью расщепляются до свободных жирных кислот, фосфолипидов, ди- и моноглицеридов, холестерина; однако у большинства больных сохраняется нарушение всасывания липидных метаболитов и выявляется выраженный дефицит жирорастворимых витаминов А, D, E, К и каротиноидов [7,10,11].

Жирорастворимые витамины и бета-каротин должны добавляться к пище ежедневно всем больным с панкреатической недостаточностью (ПН) (таблица 2). Пациенты с сохранной функцией поджелудочной железы обязательно должны получать дополнительно витамин Е. Водорастворимые витамины назначаются больным МВ в обычных профилактических дозировках, рекомендуемых здоровым лицам соответствующего возраста, за исключением витамина С, потребность в котором у больных повышена, и витамина В12 в случаях резекции подвздошной кишки [11].

Таблица 2. Рекомендуемые дозы жирорастворимых витаминов и бета-каротина для больных муковисцидозом

Витамины	Больные муковисцидозом, которым показаны витамины	Дозы
А	Все с ПН	4000-10000 МЕ*/сутки
Д	Все с ПН	400-2000 МЕ*/сутки, в зависимости от концентрации в сыворотке
Е	Все 0 – 6 мес. 6 – 12 мес. 1 – 4 года 4 – 10 лет ≥ 10 лет	25 МЕ***/сутки 50 МЕ***/сутки 100 МЕ***/сутки 100 – 200 МЕ***/сутки 200 – 400 МЕ***/сутки
К	Все с ПН при патологии печени	от 1 мг в сутки до 10 мг в неделю 10 мг в сутки
Бета-каротин	Все с ПН	0,5-1 мг/кг в сутки, максимум 50мг в сутки
В12	Тест Шиллинга < 45% после резекции подвздошной кишки	100 мкг в/м / месяц

* витамин А : МЕ x 0,3 = мкг;

** витамин Д : МЕ / 40 = мкг;

*** витамин Е : МЕ / 1,49 = мг

Большинство больных МВ нуждаются в дополнительном введении натрия и хлоридов. Потребность в хлориде натрия возрастает во время обострения легочного процесса, при гипертермии, полифекалии, в условиях жаркого климата. Особенно следует обращать внимание на детей раннего возраста (до 2 лет), у которых может развиваться синдром псевдо-Барттера (сольтеряющая форма муковисцидоза), характеризующийся резким снижением электролитов (калий, натрий) и метаболическим алкалозом. Без своевременной коррекции состояние может оказаться фатальным. В каждом конкретном случае следует индивидуально подбирать дозу электролитных растворов после дополнительного обследования [15].

Пациентам с муковисцидозом необходимо дополнительное введение кальция, особенно в связи с высокой частотой остеопороза, выявляемого у подростков и взрослых (не менее 400–800 мг детям и 800–1200 мг подросткам в сутки). Соотношение кальция к фосфатам должно составлять 1:2.

Имеются сообщения о возможной недостаточности у больных муковисцидозом магния, особенно во время длительного приема аминогликозидов, железа, цинка, меди, селена, но назначение соответствующих препаратов может быть произведено только после дополнительного обследования каждого конкретного больного [3,10,11]. Так на сегодня нет оснований назначения селеновых препаратов пациентам с МВ, так как панкреатические ферменты содержат 0,5–1,6мгк/г селена, и этого количества достаточно для активности глутатионовой пероксидазы [11].

Поражение печени

Частота вовлечения гепатобилиарной системы в патологический процесс, по данным разных авторов, составляет от 20 до 80% [16, 17]. До настоящего времени генез этих изменений не ясен и является многофакторным. Белок CFTR локализуется в апикальных мембранах эпителиальных клеток желчных протоков, где развиваются изменения электролитного транспорта, подобные изменениям в бронхолегочной системе. В результате чего желчь становится вязкой, развивается гепатоцеллюлярный и канальцевый холестаз, который приводит к целой серии патологических реакций: с одной стороны, к задержке гепатотоксичных желчных кислот, продукции медиаторов воспаления, цитокинов и свободных радикалов, усилению перекисного окисления липидов и повреждению клеточных мембран; с другой стороны, к избыточному поступлению желчи в кровь и ткани и к уменьшению количества или даже отсутствию желчи в кишечнике [16].

Характерной морфологической картиной поражения печени при МВ является фокальный билиарный фиброз с явлениями отека, хронической воспалительноклеточной инфильтрацией, пролиферацией желчных протоков, скоплениями эозинофильных масс во внутрипеченочных протоках. Лишь у части больных (5–20%) эти изменения прогрессируют и ведут к мультинодулярному билиарному циррозу и портальной гипертензии. Важно отметить, что при МВ функция гепатоцита длительно не страдает и, клинические признаки печеночной недостаточности у больных МВ развиваются крайне редко.

У больных МВ с явными клиническими признаками заболевания печени обычно выявляются тяжелые нарушения питания, как в целом, так и в отношении специфических макронутриентов, жирорастворимых витаминов и факторов свертывания крови [11].

Желчнокаменная болезнь встречается приблизительно у 3–10% больных МВ. Около 25% наблюдаемых нами больных МВ имеют гипоплазированный или полностью склерозированный желчный пузырь [16, 17].

Лечение поражений печени при МВ

На современном этапе лечение поражений печени включает: коррекцию питания, терапевтическое и хирургическое лечение, в том числе трансплантацию печени. Генная инженерия остается пока терапией будущего.

Единственным этиотропным лекарственным препаратом, доказавшим свою эффективность во многих рандомизированных исследованиях, является урсодезоксихолевая кислота (УДХК), давно применяющаяся при лечении желчнокаменной болезни и эффективно растворяющая в таких случаях холестериновые камни [11]. Еще в 1990 году было показано, что УДХК улучшает продвижение желчных кислот за счет стимуляции богатого бикарбонатами желчеотделения. Именно этот механизм важен для коррекции нарушений в печени при МВ, где желчные протоки забиты вязкими и плотными секретами. УДХК обладает и прямым цитопротективным действием, благодаря способности молекул УДХК образовывать друг с другом димеры и в таком виде встраиваться в мембраны гепатоцитов, тем самым, делая их неуязвимыми к цитотоксичным мицеллам. Кроме того, посредством механизма обратной связи она снижает всасывание холестерина в кишечнике, секрецию холестерина в желчь и синтез холестерина в печени, что уменьшает литогенность желчи [16,17,18]. Многими исследованиями показана эффективность сочетанного назначения УДХК и таурина [11].

Результаты клинических испытаний, проведенных совместно с Т.Ю.Капустиной, указывают на необходимость назначения УДХК в дозе не менее 15–30 мг/кг/сут больным МВ при начальных клинико-лабораторных признаках поражения печени. При этом наблюдается выраженное холеретическое действие УДХК у больных МВ. Кроме того, нами выявлено мембраностабилизирующее действие с выраженным антиоксидантным эффектом препаратов УДХК [17].

В нашей практике наиболее часто применяется Урсосан, фирмы Про.Мед.ЦС Прага а.с. (Чехия), имеющий в своих показаниях применения – муковисцидоз. Появившиеся на Российском фармацевтическом рынке другие лекарственные формы УДХК, в противопоказаниях имеют детский возраст и наличие выраженных нарушений функции поджелудочной железы. Учитывая, что более 70% больных в РФ это – дети, безопасность приема таких препаратов вызывает пока настороженность.

В России периодически предпринимаются попытки изучения клинической эффективности препарата Гептрал (s-ademetionine), фирмы Эбботт [19]. Однако достоверных данных о необходимости и безопасности его применения, особенно у детей, ни отечественными, ни зарубежными авторами получено не было.

Пересадка печени показана больным с МВ с терминальной стадией поражения печени, но с относительно сохранной функцией внешнего дыхания. Возможна полная или частичная пересадка печени. По данным разных авторов более одного года выживают от 75% до 80% больных, более 10 лет – 60%. При сочетанной пересадке легких и печени, или легких, сердца и печени более одного года выживают до 70% [16].

Поражение желудочно-кишечного тракта

Помимо нарушения функции поджелудочной железы у больных МВ имеются патологические изменения в самом желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Известно, что тремя основными функциями желудочно-кишечного тракта являются: переваривание, всасывание и продвижение кишечного содержимого. Интестинальные нарушения при МВ представляют собой комбинацию нарушенной хлоридной секреции, которая ведет к дегидратации кишечного содержимого, и повышения слизиобразования. Повышенное выделение желудочного сока (имеющееся у 70% больных МВ) на фоне сниженного количества бикарбонатов в

соке поджелудочной железы ведет к низкому рН в двенадцатиперстной кишке. Избыток вязких гликопротеинов и бокаловидных клеток в тонком кишечнике ведет к снижению всасывания питательных веществ. Увеличенное количество бокаловидных клеток обнаружено в различных органах: в прямой кишке, аппендиксе, протоках поджелудочной железы, пищеводе, двенадцатиперстной кишке, а также в бронхиальном дереве. Многими авторами описано значительное снижение скорости продвижения содержимого в тонком кишечнике, что может приводить к повышенному росту патологических бактерий, ведущему к усилению мальабсорбции. Это может вызываться наличием не переваренных жиров и аминокислот в нижнем отделе тонкого кишечника [3,9,20].

Благодаря проводимым обследованиям больных с муковисцидозом в каждом конкретном случае могут выявляться различные заболевания со стороны ЖКТ, являющиеся осложнением самого муковисцидоза или связанные с имеющимися при нем нарушениями (таблица 3). Параллельно возможно выявление сопутствующих состояний, например лактазная недостаточность или аллергия к белкам коровьего молока, которые не позволяют справиться с синдром мальабсорбции только заместительной панкреатической терапией.

Таблица 3. Частота некоторых патологических состояний со стороны желудочно-кишечного тракта при муковисцидозе (собственные данные и данные литературы) [3,9,11,20,21]

Патологическое состояние	Наши данные	Литературные
гастроэзофагеальный рефлюкс	11%	26,5-80%
синдром дистальной интестинальной обструкции	8%	8-16%
хронические запоры	2,30%	
аппендицит	3%	1,50%
мекониевый илеус	4,50%	6-20%
инвагинация	1%	1%
целиакия	0,40%	0,40%
болезнь Крона	0	0,22%
инфекционные энтероколиты (Clostridium difficile, Giardia lamblia)	7%	16%
выпадение прямой кишки	21%	20%
фиброзирующая колонопатия	Ни одного случая	Сейчас редко
онкологические заболевания ЖКТ	Один случай	Редкие случаи

Гастроэзофагеальный рефлюкс встречается более чем у 1/3 больных МВ. Его развитие связано с задержкой желудочного освобождения, повышенной продукцией кислоты и также нарушением перистальтики желудка. Он поддерживается у многих больных из-за поражения легких и усиливается при кашле и определенных приемах физиотерапии. Следует учитывать, что и сам рефлюкс-эзофагит может привести к ухудшению поражения легких. Регулярно проводимая эндоскопия позволит вовремя назначить медикаментозную терапию. Для его лечения необходимо возвышенное положение после еды. Назначаются демолсификанты и прокинетики – препараты группы метоклопрамида, повышающие тонус гастроэзофагального

сфинктера (цизаприд или препульсид 10 мг. 3-4 раза в день взрослым и детям старше 12 лет, 12 недельный курс, за 30-15 мин. до еды и перед сном), группы домперидола – мотилиум. Из антацидов в последнее время широко начали применяться блокаторы протонной помпы (омепразол, лансопрозол) по 20 мг в сутки, снижающие кислотность желудочного сока. К хирургическому лечению обращаются только в крайних случаях [3].

Мекониальный илеус при рождении, **синдром дистальной интестинальной обструкции** (или эквивалент мекониального илеуса в старшем возрасте) и запоры возникают при муковисцидозе в результате повышенной вязкости кишечного секрета и низкой скорости продвижения кишечного содержимого. Имеется описание наличия мекониального илеуса у новорожденных с сохранной функцией поджелудочной железы, что указывает на нарушение секреции в кишечной стенке как первопричину возникновения данного состояния у плода. При гистологическом исследовании обнаруживаются кишечные крипты, расширенные и заполненные слизью. Эти же механизмы приводят к запорам у больных муковисцидозом.

Недавно Европейским обществом детских гастроэнтерологов, гепатологов и диетологов (ESPGHAN) были выработаны отличительные признаки двух состояний: синдром дистальной интестинальной обструкции и запоров, у больных муковисцидозом [21].

Таблица 4. Критерии диагностики синдрома дистальной интестинальной обструкции (СДИО) у больных муковисцидозом, выработанные Европейским обществом детских гастроэнтерологов, гепатологов и диетологов (ESPGHAN)

1. Полная тонкокишечная непроходимость, сопровождаемая рвотой с желчью и/или уровнями жидкости в тонкой кишке на рентгенограмме брюшной полости
2. Фекальные массы в илеоцекальном углу
3. Абдоминальные боли и/или вздутие живота

Полный СДИО: критерии 1, 2 и 3;

Неполный СДИО: критерии 2 и 3, без 1

Таблица 5. Критерии диагностики запоров при муковисцидозе, выработанные Европейским обществом детских гастроэнтерологов, гепатологов и диетологов (ESPGHAN)

1. Абдоминальные боли и/или вздутие живота
2а. Снижение частоты дефекации в последние несколько недель или месяцев
2б. Повышение плотности стула в последние несколько недель или месяцев
3. Разрешение критериев 1 и 2 при применении слабительных средств

Запор: критерии 1 или 2а или 2б и 3

При нетяжелом состоянии хороший эффект могут оказать лактулоза и/или N-ацетилцистеин, назначаемые через рот по 2-3 раза в день. Лактулоза может назначаться в дозе от 5 до 15 мл утром и вечером и/или N-ацетилцистеин по 200-400мг три раза в день. При тяжелых – в стационаре под наблюдением хирурга с применением высокоосмолярных растворов в клизмах и внутривенной регидратационной терапии, в течение нескольких дней. В России мы используем 20% раствор N-ацетилцистеина для ингаляций или внутривенного введения (50 мл ацетилцистеина + 50 мл физиологического раствора в клизме 2 раза в день). В дальнейшем требуется коррекция дозы панкреатических ферментов, с

одновременным длительным назначением лактулозы. Зарубежными авторами наряду с лактулозой в последнее время с успехом используется полиэтиленгликоль (per os, в виде клизм или кишечного лаважа), и, значительно реже – меглюмин диатризоат (Гастрографин, фирмы Schering AG, Германия). На фоне применения всех вышеуказанных средств довольно часто удается избежать хирургического лечения, даже мекониального илеуса [20,21].

У 20–30% детей до 5 лет без получения адекватной панкреатической терапии может развиваться ректальный пролапс. Патофизиология его не совсем понятна, однако известно, что он не охватывает всю стенку толстой кишки, а только ее слизистый и подслизистый слои. При применении новых форм микрогранулированных панкреатических ферментов с Ph-чувствительной оболочкой он практически не встречается и не требует хирургического лечения.

Фиброзирующая непроходимость толстого кишечника, которую связывают с высокими дозами некоторых форм панкреатических ферментов – крайне редкое осложнение, требующее, как правило, хирургического лечения.

Среди больных МВ имеется повышенный риск развития **онкологических заболеваний ЖКТ**, что стало очевидным с увеличением продолжительности жизни [3, 11,20].

Заключение

Таким образом, изучение механизмов поражения органов пищеварения при муковисцидозе а, следовательно, и терапии, которая стремится максимально приблизить процессы переваривания и всасывания к физиологической норме, еще далеко не закончены и будут продолжены в будущем совместными усилиями ученых и врачей. Панкреатические ферменты в виде кристаллов (liprotamase), полученные по генноинженерным технологиям, а также вырабатываемые из бактерий, устойчивые к желудочному соку, уже в ближайшее время могут стать доступными нашим пациентам. Расширяемая география производства панкреатических ферментов и урсодезоксихолевой кислоты, включая нашу страну, требует проведения клинических исследований для изучения эффективности и безопасности производимых препаратов.

Библиография

1. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA // Science. 1989 Sep 8;245(4922):1066–73.
2. Капранов Н.И, Каширская Н.Ю. Проблемы организации и совершенствования медицинской и социальной помощи больным муковисцидозом в России на современном этапе // Лечебное дело №2, 2010. – С.12–17
3. Муковисцидоз. Ранняя диагностика и лечение. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Толстова В.Д. М.: Гэотар-Медиа – 2008. – с.104.
4. Zielenski J, Corey M, Rozmahel R, et al. Detection of a cystic fibrosis modifier locus for meconium ileus on human chromosome 19q13 // Nat Genet. 1999 Jun;22(2):128–9.
5. Duthie A, Doherty DG, Donaldson PT et al. The major histocompatibility complex influences the development of chronic liver disease in male children and young adults with cystic fibrosis // J Hepatol 1995; 23: 532–537
6. Arkwright PD, Pravica V, Geraghty PJ et al. End-organ dysfunction in cystic fibrosis: association with angiotensin 1 converting enzyme and cytokine gene polymorphisms. Am J Resp Crit Care Med 2003; 167: 384–389.

7. Каширская Н. Ю., Капранов Н. И., Кусова З. А., Шелепнева Н. Е. Поражение поджелудочной железы при муковисцидозе // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология № 8, 2010 С.98-105.
8. Lippold B.C. What is the ideal size for enteric-coated pancreatin preparations? // Drugs made in Germany. Vol.41. – N.2. – 1998. – P.52-56.
9. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Поражение системы пищеварения при муковисцидозе // Ремедиум – 2009. – №5. – С.22-23.
10. Мухина Ю.Г., Римарчук Г.В., Капустина Т.Ю., Каширская Н.Ю. и др. Лечебное питание у детей старшего возраста // Глава в Практическом руководстве по детским болезням под общей редакцией В.Ф.Коколиной, А.Г.Румянцева, том IVX. Современные рекомендации по питанию детей (под редакцией порф. Ю.Г.Мухиной, проф. И.Я.Коня) М.: ИД «Медпрактика-М», 2010, 568с. С.403-485.
11. M. Sinaasappel, M. Stern, J. Littlewood, et al. Nutrition in patients with cystic fibrosis // J Cyst Fibros.- 2002. – Vol.1. – P.51-75.
12. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Опыт терапии экзокринной недостаточности поджелудочной железы при муковисцидозе в России // Русский Медицинский Журнал – 09 июня 2011 г, том 19, № 12. – С.737-742.
13. Littlewood JM, Connett GJ, Sander-Struckmeier S, Henniges F; Creon 40,000 Study Group. A 2-year post-authorization safety study of high-strength pancreatic enzyme replacement therapy (pancreatin 40,000) in cystic fibrosis. Expert Opin Drug Saf. 2011 Mar;10(2):197-203.
14. Kuhn RJ, Gelrud A, Munck A, Caras S. CREON (Pancrelipase Delayed-Release Capsules) for the treatment of exocrine pancreatic insufficiency. Adv Ther. 2010 Dec;27(12):895-916.
15. Кусова З.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Особенности массового скрининга новорожденных на муковисцидоз // Русский Медицинский Журнал. 2010. – том 18, № 5 – Человек и лекарство. Часть 1.- С.265-270.
16. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease J Cyst Fibros. 2011 Jun;10 Suppl 2:S29-36. Review.
17. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Поражение печени при муковисцидозе. В книге Детская Гепатология. Под ред. Б.С.Каганова. М.: Издательство «Династия», 2009. – 576с. Глава 24. С.404-414.
18. Lapenna D., Ciofani Y., Festi D. et al. Antioxidant properties of ursodeoxycholic acid. Biochem Pharmacol 2002, 64, (11): 1661.
19. Ковалев В.Н., Орлов А.В., Ларинова В.И., Желенина Л.А. Выбор тактики лечения цирроза печени у больных муковисцидозом (МВ) на основе изучения метаболизма метионина и полиморфизма гена метилентетрагидрофолат-редуктазы (MTHFR).
20. Gooding, D.Westaby. Gastrointestinal disease in cystic fibrosis. In Cystic fibrosis. Third edition by M.Hodson, G.Duncan, A.Bush. London: Edward Arnold (Publishers) Ltd, 2007. – p. 209-224.
21. Hubert P.J., van der Doef, Freddy T.M.Kokke et al. Intestinal obstruction syndromes in cystic fibrosis: meconium ileus, distal intestinal obstruction syndrome and constipation // Curr Gastroenterol Rep (2011), 13: 265-270.

Шерман В.Д.¹, Каширская Н.Ю.², Капранов Н.И.², Кусова З.А.²

¹ Отделение муковисцидоза поликлинического отделения ДГКБ№13 им.Н.Ф.Филатова, Москва

² Научно-клинический отдел муковисцидоза МГНЦ РАМН, Москва

Многолетний опыт стран-пионеров в области неонатального скрининга (НС) на муковисцидоз (МВ) показывает, что при правильной организации массового скрининга диагноз может быть установлен 90 % новорожденных с МВ в течение первых 6-ти недель жизни, даже при отсутствии каких-либо симптомов заболевания [1]. Благодаря своевременному медико-генетическому консультированию семей с больным ребенком в перспективе удастся повлиять и на частоту МВ. Так, в странах, где скрининг проводится уже более 20 лет (Италия, Франция, Англия), удалось снизить среднюю частоту МВ на 30-50% [2].

Первые попытки проведения неонатального скрининга на муковисцидоз в Европе предпринимались еще в начале 70-х годов прошлого века, но лишь обнаруженное в 1979 году повышение уровня иммунореактивного трипсиногена (ИРТ) в плазме крови новорожденных с МВ, послужило толчком к началу массового скрининга новорожденных на данное заболевание в Н.Зеландии, Австралии, а затем, и в ряде Европейских стран. Открытие в 1989 г. гена муковисцидоза позволило включить анализ ДНК в скрининговые протоколы, что существенно повысило их чувствительность. По данным Европейского консенсуса, на 2004 год по программе НС в Европе ежегодно обследовалось более 1,5 миллионов новорожденных, и выявлялось более 400 больных детей. В 2008 г. количество детей, прошедших скрининг, превысило 3 миллиона в год в связи с внедрением программы неонатального скрининга на МВ в Великобритании и России. В 2009 году был опубликован Европейский консенсус по неонатальному скринингу, в создании которого принимали участие многие специалисты в том числе и из Российского центра МВ [3].

В настоящее время в Европе насчитывается около 30 вариантов программ скрининга на МВ, включающих от 2 до 4 последовательных этапов обследования. Наиболее частые из них: ИРТ/ДНК/Потовый тест, ИРТ/ИРТ/Потовый тест, ИРТ/ДНК/ИРТ (таб. 1). И если вопрос «Нужно ли проводить скрининг на МВ?» среди специалистов уже не стоит, то вопрос «Как проводить скрининг?» является, по-прежнему, актуальным. При всем разнообразии подходов к скринингу ни одна из стратегий не может быть названа идеальной с экономической, клинической и этической точек зрения.

Таблица 1. Схемы неонатального скрининга.

I ЭТАП	II ЭТАП	III ЭТАП	IV ЭТАП
ИРТ	Потовый тест		
ИРТ	ДНК/БАП	Потовый тест	
ИРТ	ИРТ 2	Потовый тест	
ИРТ	ДНК + ИРТ2	Потовый тест	
ИРТ	ИРТ2	ДНК + Потный тест	
ИРТ	Потовый тест	ДНК	
ИРТ	ДНК/БАП	ИРТ2	Потовый тест

Изучается возможность использования в качестве дополнительного маркера скрининга на МВ белка, ассоциированного с панкреатитом (БАП) (pancreatitis-associated protein – PAP), в качестве теста второго уровня, либо в

комбинации с определением ИРТ в рамках теста первого уровня. БАП – это секреторный белок, который в больших концентрациях обнаруживается в крови у лиц с заболеваниями поджелудочной железы [4]. Многочисленные исследования во Франции, Нидерландах, в Германии показали, что уровень БАП в крови новорожденных с муковисцидозом значительно выше, по сравнению с группой здоровых детей. В ходе исследований ими были определены пороговые значения концентрации БАП ($N \leq 8 \text{ нг/мл}$) в периферической крови новорожденных группы риска по МВ и разработаны комбинированные наборы для оценки уровня БАП или БАП + ИРТ.

По мнению ряда авторов, использование БАП в качестве биохимического маркера скрининга на МВ, является альтернативой ДНК диагностики. Этот метод с одной стороны, является экономически наиболее выгодным, по сравнению с затратами на проведение анализа ДНК, с другой стороны, позволяет избежать проблем, связанных с необходимостью получения информированного согласия от родителей ребенка на проведение исследования, что имеет место при ДНК-диагностике в большинстве европейских стран. К тому же, использование дополнительного маркера, возможно, приведет к снижению доли ложноотрицательных результатов скрининга.

Первым этапом во всех протоколах скрининга является определение уровня ИРТ в высушенных пятнах крови новорожденных в первые сутки жизни (таб.1). У 5–10 из 1000 новорожденных определяется неонатальная гипертрипсиногенемия. Но, наряду с МВ, существует еще целый ряд патологических состояний, при которых гипертрипсиногенемия может иметь место, а именно, почечная недостаточность, внутриутробная инфекция, атрезия кишечника, несахарный почечный диабет, трисомия 13 и 18 пар хромосом. С определенной частотой повышение ИРТ отмечается у новорожденных северо-африканского и афро-американского происхождения, а также у носителей мутаций в гене МВТР [5]. В образцах крови ИРТ не стабилен, в связи с чем, не рекомендуется их хранение более 14 дней.

Ретест на ИРТ должен быть взят не позднее 8 недель жизни ребенка (оптимально на 21–28 день), так как в дальнейшем может происходить снижение его активности, и теряется диагностическая ценность пробы. Ложноотрицательные результаты анализа крови на ИРТ в отношении МВ возможны при меконияльном илеусе (проведение потовой пробы обязательно во всех случаях), недоношенности, гемотрансфузиях и вирусной инфекции.

С 2006 года в ряде регионов, а с первого января 2007 года во всех субъектах РФ массовый скрининг новорожденных на муковисцидоз включен в перечень наследственных заболеваний подлежащих обязательному неонатальному скринингу наряду с фенилкетонурией, галактоземией, гипотиреозом и адреногенитальным синдромом, в рамках национального приоритетного проекта «Здоровье». Протокол скрининга включает 4 этапа: ИРТ, ИРТ2, потовый тест и ДНК-диагностику, причем только первые три являются обязательными (рис. 1). На первом этапе в крови новорожденных (4–5 день у доношенных, 7–8 день у недоношенных) определяется уровень ИРТ. При ИРТ $> 70 \text{ нг/мл}$ берется повторный анализ на 21–28 день жизни. Пороговым уровнем для ретеста является показатель 40 нг/мл. При его превышении новорожденный направляется для проведения потовой пробы, которая является ключевым этапом скрининга на МВ. По прежнему, «золотым стандартом» считается определение хлоридов по Гибсону-Куку. Во многих центрах в качестве потового теста используется определение проводимости пота с использованием системы для сбора и анализа пота “Macroduct” в

комплексе с потовым анализатором Sweat-Chek, а также системы «Nanoduct» фирмы Vescor (США), разработанной специально для обследования новорожденных. Многочисленные исследования демонстрируют хорошую корреляции между определением проводимости и концентрацией хлоридов [6,7,8]. Тем не менее, оптимальным является сочетанное применение методик. Во всех сомнительных случаях, при получении пограничных результатов проводимости пота следует провести пробу по Гибсону-Куку [9]. Образец пота, собранный в коллектор «Macroduct» может быть проанализирован и на содержание хлоридов. Данная методика широко применяется в Европейских центрах МВ, в частности в Германии. Важно помнить, что проводимость пота определяется совокупностью всех ионов, присутствующих в потовой жидкости (калий, натрий, хлор, бикарбонат, аммоний и др.), и полученный результат превышает истинную концентрацию хлоридов примерно на 15-20 ммоль/л.

В отношении детей первых 6-ти месяцев жизни в качестве нормальных показателей рекомендуется учитывать уровни хлоридов (проба по Гибсону-Куку) не превышающие 29 ммоль/л (для детей старше 6 мес. и взрослых – 39 ммоль/л) (таб. 2).

Таблица 2. Интерпретация результатов потового теста.

Результат (ммоль/л)	Норма	Пограничный	Положительный
Классический метод (по Гибсону-Куку)	< 39	40-59	≥ 60 Но не выше 150 ммоль/л
Дети до 6 мес.	≤ 29	30-59	≥ 60
Определение проводимости (Макродакт, Нанодакт)	< 60 (< 50)	60-80	>80 Но не выше 170 ммоль/л

При отрицательном результате потовой пробы ребенок наблюдается по месту жительства с диагнозом неонатальная гипертрипсиногенемия, повторная консультация с проведением повторной потовой пробы проводится в возрасте 1 года или раньше при появлении симптомов заболевания. При положительном результате потовой пробы устанавливается диагноз МВ. В случае пограничного результата потовой пробы ее рекомендуется повторять, а также включить в план обследования ДНК диагностику, копрологическое исследование, анализ кала на эластазу-1 (в регионах, где это исследование доступно), анализ микрофлоры из зева, рентгенографию органов грудной клетки.

При обнаружении одного мутантного аллеля, пограничных результатах потовой пробы и отсутствии симптомов МВ оптимальным является проведение расширенного ДНК-анализа (секвенирование ДНК). В нашей стране это исследование в настоящий момент доступно в отдельных регионах, но из-за высокой стоимости не получило распространения. В связи с этим дети с повторными пограничными результатами потовых тестов, проведенных с использованием разных методик (определение хлоридов обязательно!), независимо от результатов ДНК диагностики, должны наблюдаться в центре МВ.

Необходимо помнить о возможности получения отрицательного результата потовой пробы у больных МВ, в частности у гомо- или гетерозиготных носителей некоторых мутаций МВТР, при которых частично сохраняется функция хлорного канала [10-11].

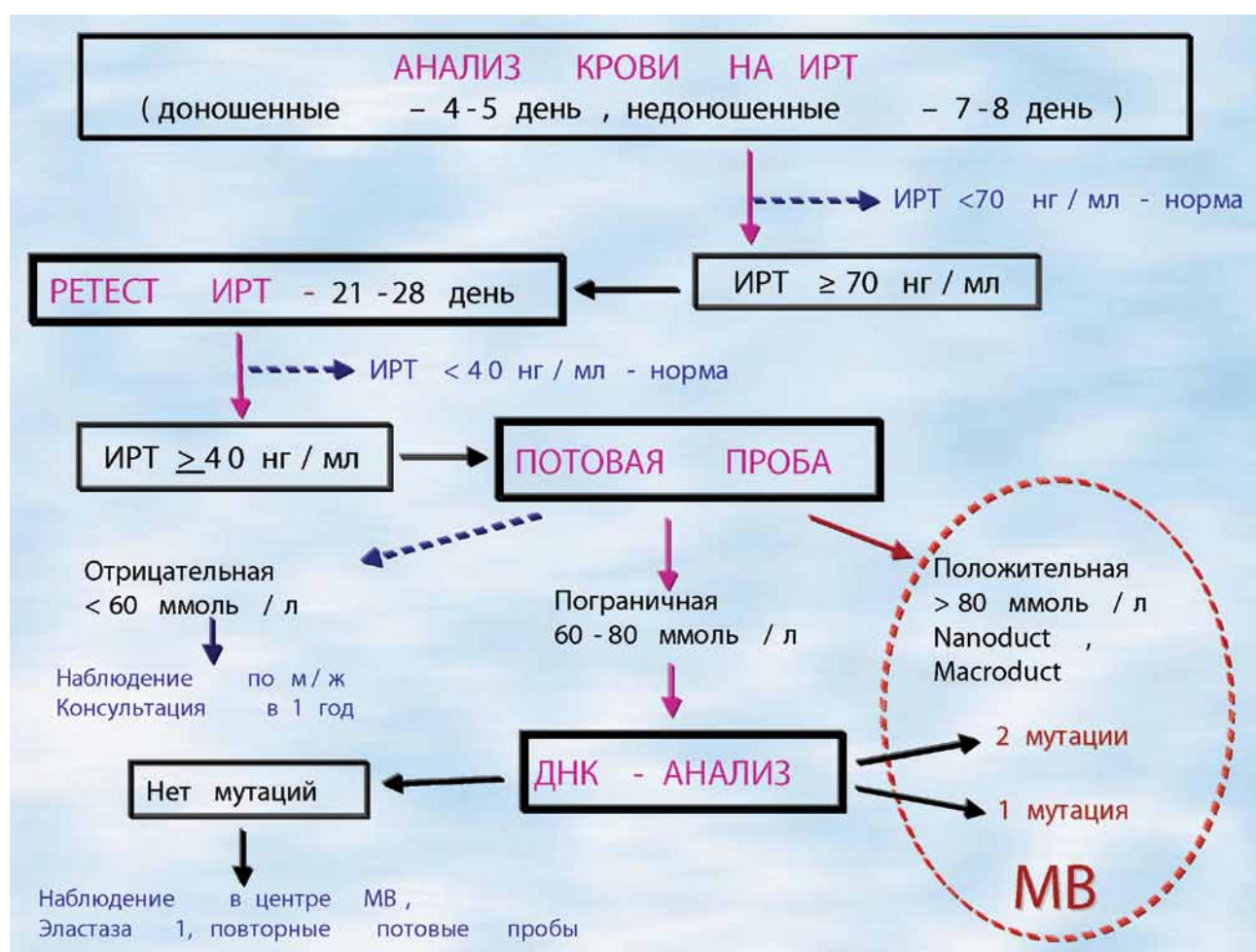


Рисунок 1. Алгоритм неонатального скрининга на МВ в России.

По данным МЗ и СР РФ с 2007 по 2010 год в РФ на муковисцидоз было обследовано 5 902 749 новорожденных с частотой выявления больных 1:10 000 новорожденных (Ходунова А.А., 2011). Охват программой скрининга составил 95-96%.

В Москве массовый скрининг новорожденных стартовал в июне 2006 года. За период с 2006 по 2010 год было обследовано 557 344 новорожденных. Среди обследованных МВ был диагностирован в 65 случаях, при этом в 5 случаях имели место ложноотрицательные результаты на всех трех этапах скрининга. Диагноз этим детям был установлен в возрасте от 6 мес. до 2 лет по клинической картине, положительному потовому тесту и анализу ДНК. Частота МВ в Москве по итогам обследования новорожденных с 2006 по 2010 год составила приблизительно 1:8500 (от 1:6462 в 2007 году до 1:13863 в 2008 г.). Несмотря на практически 100% охват программой скрининга, более 20% семей с новорожденными из группы риска по разным причинам отказываются от проведения потового теста. Исходя из этого, можно предполагать более высокую частоту МВ в Москве.

Основным преимуществом, которое дает неонатальный скрининг, безусловно, является ранняя диагностика МВ и возможность контролировать с первых месяцев жизни течение заболевания и развитие его осложнений. К таким потенциально фатальным состояниям относится синдром Псевдо-Барттера (ПБС) (сольтеряющая форма МВ). Это тяжелое электролитное нарушение, развивающееся

преимущественно в младенческом возрасте у больных МВ, может в ряде случаев являться манифестацией заболевания. В отличие от синдрома Барттера, при котором потери солей с потом нормальные, но нарушен солевой обмен в почечных канальцах, при синдроме Псевдо-Барттера, описанном у больных МВ, хронические потери с потом натрия, калия и хлора имеют принципиальное значение. Эти потери могут возрастать при повышенном потоотделении в жаркое время года, при лихорадочных состояниях, при недостаточном поступлении солей с пищей (особенно у детей на грудном вскармливании), усугубляться при рвоте, диарее, возникающих при интеркуррентных заболеваниях. В ответ на возрастающую гипонатриемию повышение уровня альдостерона приводит к увеличению его реабсорбции в дистальных почечных канальцах в обмен на повышенную секрецию ионов водорода и калия, что в свою очередь приводит к метаболическому алкалозу и усугубляет гипокалиемию.

Клинически ПБС проявляется нарастающей гипотонией, задержкой прибавки или потерей веса при адекватно подобранной дозе ферментов, повторными срыгиваниями или рвотой, диареей или задержкой стула, связанной с парезом кишечника на фоне электролитных нарушений. Диагностика состояния достаточно проста. Лабораторно определяется любое сочетание электролитных нарушений (гипонатриемия, гипокалиемия, гипохлоремия) и метаболический алкалоз. Лечение ПБС заключается во введении солевых растворов. В случае тяжелого дефицита препараты вводятся внутривенно с переходом на пероральный прием, с последующей постепенной отменой под строгим контролем концентрации электролитов в крови. Продолжительность лечения очень индивидуальна, может составлять от 1 мес. до года и более. Критерием отмены является способность удерживать нормальную концентрацию электролитов в плазме без дополнительного их введения, а также нормальная весовая кривая. При своевременной и адекватной терапии не отмечается никаких осложнений этого состояния. При подтверждении диагноза МВ у новорожденных необходимо информировать родителей о возможности развития ПБС, его симптомах и алгоритме поведения при их появлении.

Наряду с бесспорными плюсами массового скрининга новорожденных нельзя не отметить некоторые проблемы, возникающие при его проведении. Во-первых, это психологическая нагрузка на семьи из группы риска в ожидании результатов обследования. Зачастую с момента оповещения родителей о необходимости обследования до проведения потовой пробы проходят недели. Другой немаловажной проблемой является риск перекрестного инфицирования, которому подвергаются новорожденные с МВ при посещении специализированных центров. По данным З.А. Кусовой, в группе больных, выявленных по программе массового скрининга в г. Москве, первый высеv синегнойной палочки приходился на более ранний возраст, чем в группе, диагностированной по клинической картине [12]. Новорожденные из группы риска и даже с уже установленным диагнозом при возможности амбулаторного обследования и лечения, должны направляться в стационар только в крайних случаях. Амбулаторный прием этих пациентов желательно проводить в отдельном помещении, ограничив контакт с пациентами старшего возраста.

Анализ трудностей, возникающих на всех этапах проведения массового скрининга новорожденных, учет преимуществ, которые дает скрининг для каждого пациента в отдельности и для общества в целом, способны довести программу скрининга до совершенства. Однако, максимальный эффект от ранней диагностики МВ возможен только при дальнейшем обеспечении государством в полном объеме социальной и медицинской помощи таким пациентам.

Список литературы

1. Massie RJ, Olsen M, Glazner J, Robertson CF Newborn screening for CF in Victoria:10 years experience Med J Aust 2000.
2. Bush A., Gotz M. Cystic fibrosis// Chapter 15, p. 234-289 In Eur Resp Mon, 2006; 37.
3. Carlo Castellani, Kevin W. Southern, Keith Brownlee et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. Journal of Cystic Fibrosis 2009; Volume 8: 153-173.
4. J. Sarles, S. Barthelme, C. Ferec et al. Blood concentrations of pancreatitis associated protein in neonates: relevance to neonatal screening for cystic fibrosis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 1999 March; 80(2): F118-F122.
5. C. Castellani, L. Picci, M. Scarpa Cystic fibrosis carriers have higher neonatal immunoreactive trypsinogen values than non-carriers. American Journal of Medical Genetics Part A 2005; Volume 135A; (2): 142-144.
6. J.L. Lesana, M.H. Vargas, J. Karam-Bechara et al. Sweat conductivity and chloride titration for cystic fibrosis diagnosis in 3834 subjects. Journal of Cystic Fibrosis 2003 (2):1-7.
7. D. Sands, M. Oltarzewski, A. Nowakowska et al. Bilateral sweat tests with two different methods as a part of cystic fibrosis newborn screening (CF NBS) protocol and additional quality control. Folia Histochem Cytobiol; 2010; 48 (3): 358-365.
8. H.C. Losty, H. Wheatley, L. Doull. The evaluation of a novel conductometric device for the diagnosis of cystic fibrosis. Annals of clinical biochemistry; 2006; 43 (5):375-381.
9. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, et al. Diagnostic sweat testing:the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. J Pediatr Jul 2007; 151(1):85-9.
10. Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boat TE, Spock A, Gorvoy JD, Quittell L, Friedman KJ, Silverman LM, Boucher RC and Knowles MR. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. N.Engl.J.Med 1994; 331; 974-80.
11. Stewart B, Zabner J, Shuber AP, Welsh MJ, McCray PB. Normal sweat chloride values do not exclude the diagnosis of cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: 899-903.
12. Кусова З.А. Эффективность программы массового обследования новорожденных на муковисцидоз. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2011.

Кусова З.А., Каширская Н.Ю., Петрова Н.В., Капранов Н.И.

**Учреждение Российской академии медицинских наук
Медико-генетический научный центр РАМН
115478, Москва, ул. Москворечье, д.1.**

Муковисцидоз (МВ, CF; OMIM:219700) – частая наследственная полиорганная патология, обусловленная мутацией в гене трансмембранного регулятора проводимости *CFTR*, манифестирующая, как правило, в раннем детском возрасте. В мире, неонатальный скрининг на МВ успешно проводится более тридцати лет. Как показал многолетний опыт зарубежных исследователей, активное диспансерное наблюдение и своевременное комплексное лечение вновь выявленных больных, позволяют предотвратить или, по крайней мере, замедлить развитие осложнений, ведущих к ранней инвалидизации. Подтверждением этому является рост числа больных взрослого возраста, произошедший в мире за последние десятилетия (Donna L., et al.1999; Brice P., et al.2007; Erika J., et al.2007; Southern K., et al.2007; Castellani C., et al.2009).

В России обследование новорожденных на МВ проводится не так давно – с июня 2006 года в рамках приоритетного проекта "Здоровье". В нашей стране скрининг на МВ проводится по схеме ИРТ/ИРТ, потовый тест, с использованием в качестве биохимического маркера иммунореактивного трипсинагена. По данным европейского консенсуса неонатальная гипертрипсиногенемия в популяции обнаруживается с частотой 1 на 100–200 здоровых новорожденных. Кроме того, причиной повышения уровня ИРТ в крови новорожденных, помимо МВ, может быть ряд врожденных и наследственных патологий, таких как: внутриутробная гипоксия плода, внутриутробные инфекции, перинатальный стресс, незрелость плода, конъюгационная желтуха новорожденных, хромосомные перестройки и др., а также гетерозиготное носительство мутаций в гене *CFTR*, как следствие функциональной недостаточности поджелудочной железы (Scotet V., et al. 2001; Gomez Lira M., et al. 2001). Доля ложноотрицательных результатов скрининга с использованием различных протоколов обследования, не превышает 3% (данные по европейским странам).

Несмотря на небольшой срок существования программы неонатального скрининга на МВ в РФ (около 4,5 лет), в московском регионе за этот период диагностировано более шестидесяти детей. До настоящего времени оценку эффективности раннего выявления и последующего пресимптоматического лечения детей с МВ в России не проводили. С учетом этого были сформулированы цели и задачи настоящего исследования.

Целью данного исследования является оценка эффективности программы массового обследования новорожденных на МВ в России, на примере г. Москвы.

Задачи исследования:

1. Оценить достоверность метода двукратного определения концентрации иммунореактивного трипсиногена в плазме крови новорожденных (ИРТ/ИРТ), выбранного в качестве диагностического теста неонатального скрининга на МВ в РФ.
2. Сравнить протокол скрининга ИРТ/ИРТ со схемой ИРТ/ДНК, используемой при обследовании новорожденных на МВ в большинстве зарубежных стран.
3. Оценить клиническую эффективность неонатального скрининга на примере сравнения тяжести течения МВ у больных, выявленных по скринингу, и диагностированных по симптомам заболевания.

Материалы и методы исследования

Оценка достоверности протоколов скрининга ИРТ/ИРТ, ИРТ/ДНК, проведена на основании расчетов качественных признаков: чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов, отношения правдоподобия, а также, доли возможных ложноположительных и ложноотрицательных результатов, проведенных по общепринятой методике.

Проанализирована база данных пациентов, наблюдающихся в отделении МВ поликлиники ДГКБ№13 им. Н.Ф.Филатова (зав. отделением к.м.н. Шерман В.Д.). Сформированы две группы исследования. Первую группу составили 19 детей больных МВ (ср. возраст $3,8 \pm 0,08$ лет), выявленных по неонатальному скринингу в 2006 – 2007 годах. Вторую группу составили 20 пациентов (ср. возраст $8,24 \pm 0,74$ лет), у которых диагноз был заподозрен по клиническим проявлениям. Для достоверности сравнения оценивали течение заболевания в первые три года жизни детей в обеих группах. Основные критерии отбора, которых придерживались при составлении выборки, включали следующие пункты: возраст пациентов на момент исследования не менее трех лет; наличие медицинских сведений о пациенте до момента постановки диагноза МВ. Оценивали показатели физического статуса в возрасте одного, двух и трех лет жизни включительно; время появления первых симптомов заболевания; возраст установления диагноза и начала базисной терапии; частоту декомпенсации кишечного синдрома, характер и частоту обострений респираторного синдрома; результаты микробиологического исследования бронхиального секрета, данные рентгенологического индекса (РИ) и балльной оценки тяжести течения заболевания по шкале Швахмана-Брасфильда, в модификации С.В. Рачинского и Н.И. Капанова.

Для исключения возможного специфического влияния на клинические фенотипы больных мутаций различных классов, проведен анализ генотипов по гену *CFTR*. В обеих группах дефекты гена *CFTR* представлены т.н. «тяжелыми» мутациями I и II классов.

Результаты и обсуждение**Оценка критериев достоверности протоколов неонатального скрининга на МВ.**

Для оценки эффективности программы массового обследования новорожденных на МВ в г. Москве, проанализированы результаты скрининга за четыре с половиной года (2006–2010гг.), рассчитаны показатели достоверности метода ИРТ/ИРТ. В г. Москве за этот период обследовано 557344 ребенка (табл. 1).

Таблица 1. Итоги неонатального скрининга на муковисцидоз в г. Москве.

Характеристики	2006г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.	Всего
Число обследованных, абс.	60372	109860	124772	125772	136568	557344
Положительный ИРТИ, абс.	563	729	1 254	1 374	1851	5771
Положительный ИРТ II, абс.	52	100	179	259	467	1057
Потовый тест, абс.	36	71	133	193	333	766
Диагностированные случаи МВ, абс	7	15+1*	7+2*	17+1*	14	64
Частота	1:8624	1: 6866	1: 13863	1:6987	1:9754	1:8708

Примечание: * – ложноотрицательный скрининг

Повышение уровня ИРТ > 70 нг/мл на первом этапе скрининга отмечено у 5771 ребенка, при повторном обследовании на 23–27 сутки, гипертрипсиногенемия (ИРТ II>40нг/мл) сохранялась у 1057 детей, однако потовый тест проведен 766 (72,37%) новорожденным, т.к. в 27,63% случаев родители по тем или иным причинам отказались от дальнейшего обследования. В четырех случаях обнаружен ложноотрицательный результат. Двое детей выявлены при анализе частых мутаций в гене *CFTR* в образцах ДНК 1254 новорожденных с гипертрипсиногенемией, обследованных в 2008 году. Генотипы детей представлены мутациями I, II и V классов: *CFTR*dele2,3 (21kb)/*CFTR*dele2,3 (21kb), F508del/L138ins.

Еще двоим детям с отрицательными результатами скрининга (1-й ребенок 2007 г.р.: ИРТ I = 38,32нг/мл, L138 ins/?; 2-й ребенок 2009 г.р.: ИРТИ = 32нг/мл, F508del/?), диагноз установлен в московском центре МВ в возрасте 6 месяцев и 1 года 5 месяцев по клинической картине заболевания, положительному потовому тесту и анализу ДНК.

Таким образом, частота МВ по г. Москве, рассчитанная за 4,5 года, составила 1:8708. Однако учитывая количество семей, отказавшихся от обследования (27,63%), а также долю ожидаемых ложноотрицательных результатов, предполагаем, что истинная частота заболевания по г. Москве может быть выше представленной (около 1:6400).

При расчете критериев достоверности метода ИРТ/ИРТ после первого этапа обследования, чувствительность метода оказалась равной 96,87%. Это означает, что практически все дети с гипертрипсиногенемией будут обнаружены при проведении скрининга. Специфичность метода составила 98,97%, т.е. почти все дети с отрицательным результатом скрининга будут здоровы.

Таблица 2. Оценка достоверности протокола ИРТ/ИРТ после первого этапа скрининга.

	Наличие признака (МВ)	Отсутствие признака (МВ)		
ИРТ I > 70 нг/мл	a = 62	b = 5709	a+b= 5771	+PV=a/(a+b)= 0,0107
ИРТ I < 70 нг/мл	c = 2	d = 557344-5771-2=551571	c+d= 551573	-PV=c/(c+d)= 0,0000036
	Se=a/(a+c)=62/64= 0,9687	Sp= d/(b+d)= 551571/557280= 0,9897	a+b+c+d= 557344	
	ЛО=c/(a+c)=2/64= 0,03125	ЛП=b/(b+d)= 5709/557280= 0,01035		
	+LR= Se/(1-Sp) 0,9687/0,0103= 94,04	-LR=(1-Se)/Sp =0,016/0,9897= 0,0316	P = (a+c)/(a+b+c+d) = 0,00011483	

Примечание: ЛП¹– ложноположительный, ЛО²– ложноотрицательный

После первого этапа скрининга ложноотрицательное снижение уровня ИРТ выявлено у двоих детей, диагностированных позже по клинической картине заболевания, положительному потовому тесту и анализу ДНК. Доля ложноположительных результатов составила 0,01035 (1:97) (табл.2). Так как повышение концентрации ИРТ (>70 нг/мл) может быть выявлено у детей с функциональной недостаточностью поджелудочной железы, для уменьшения доли ложноположительных результатов, рекомендовано использовать отсекающие значения, которые для повторного ИРТ – теста составляют 40 нг/мл. Так, доля ложноположительных результатов на ретесте снизилась, и составила 0,00178 (1:558) (табл.3).

На втором этапе скрининга ложноотрицательное снижение уровня ИРТ также выявлено у двоих детей.

Таким образом, доля ложноотрицательных результатов после каждого из последовательно проведенных этапов не превышает 3%, что сопоставимо с зарубежными данными.

Чувствительность метода на ретесте практически не изменилась (96,77%), специфичность приблизилась к 100%. Как известно, чем специфичнее диагностический метод, тем выше предсказательная ценность его положительного результата, что и получено (табл.3). Отношение правдоподобия положительного результата после повторного исследования концентрации ИРТ также увеличилось более чем в 5 раз.

Таблица 3. Оценка достоверности протокола ИРТ/ИРТ после второго этапа скрининга.

	Наличие признака (МВ)	Отсутствие признака (МВ)		
Положительный тест: ИРТИ >70 нг/мл ИРТII >40 нг/мл	a = 60	b = 1057-60= 997	a+b= 1057	+PV= a/(a+b)= 0,0567
Отрицательный тест: ИРТИ >70 нг/мл ИРТII <40 нг/мл	c = 4-2*= 2	d = 557344-1057-1-3 = 556283	c+d= 556285	-PV= c/(c+d)= 0,0000035
	Se=a/(a+c)= 0,9677	Sp=d/(b+d)= 0,9982	P = 0,0001112	
	c/(a+c) = 2/62= 0,03	b/(b+d)= 0,00178		
	+LR=Se/(1-Sp)= 537	-LR=(1-Se)/Sp= 0,0323		

Примечание: *- ложноотрицательный скрининг с ИРТИ <70 нг/мл.

Третьим этапом всех протоколов неонатального скрининга на МВ является потовая проба. Чувствительность и специфичность метода составляют не менее 95,31% и 100% соответственно, вероятность ложноположительных результатов равна нулю. Однако не исключена вероятность ложноотрицательных значений. На данном этапе обследования выявлены трое детей больных МВ, с отрицательной потовой пробой (табл.4).

Таблица 4. Критерии достоверности протокола ИРТ/ИРТ, потовый тест после каждого из трех этапов обследования.

Показатели	ИРТ I	ИРТ II	Потовый тест
Ложноотрицательные значения	0,03 (1:31)	0,03 (1:31)	0,04 (1:21)
Ложноположительные значения	0,01035 (1:97)	0,00178 (1:558)	0
Чувствительность (Se)	0,9687	0,9677	0,9531
Специфичность (Sp)	0,9897	0,9982	1,0
Предсказательная ценность положительная (+PV)	0,0107	0,0567	1,0
Отношение правдоподобия (likelihood ratio, LR+)	94:1	537:1	-

Однако можно предположить, что причиной ложноотрицательного теста, в данном случае, является, обнаруженная у двоих из этих детей, мутация 3849+10kbC>T, которая согласно литературным данным, зачастую ассоциируется с остаточной функцией хлорного канала, и как следствие, нормальным уровнем хлоридов пота.

При сравнении метода ИРТ/ИРТ с протоколом ИРТ/ДНК установлено, что протокол ИРТ/ДНК обладает высокой чувствительностью, не менее 100% и специфичностью порядка 99,96%. Вероятность наличия заболевания (+PV) при положительном результате ИРТ/ДНК теста, оказалась выше, по сравнению с двукратным определением концентрации ИРТ в плазме крови новорожденных (табл.5). Однако, вероятность получения положительного результата скрининга при наличии МВ у новорожденного (+LR), выше при обследовании по схеме ИРТ/ИРТ, по сравнению с ИРТ/ДНК более чем в пять раз (555:1 против 100:1). Т.е. обнаружение даже одной мутации в генотипе не подтверждает диагноза и требует проведения дальнейших диагностических мероприятий.

Не выявлено значимых отличий по частоте ложноотрицательных результатов. Но доля ложноположительных результатов после двухэтапного обследования достоверно выше при проведении ИРТ/ИРТ – теста, по сравнению с ИРТ/ДНК (1:725 против 1:2901, $p < 0,05$) (табл.5).

Таблица 5. Сравнительная оценка протоколов ИРТ/ИРТ и ИРТ/ДНК по данным неонатального скрининга на МВ, проводимого в Москве в 2008 году.

	ИРТ/ИРТ	ИРТ/ДНК
Se (sensitivity)	0,7778	1
Sp(specificity)	0,9986	0,9996
+PV (positive prevalent value)	0,039	0,173
-PV (negative prevalent value)	0,000016	0
LR+ (likelihood ratio positive)	555:1	100:1
LR- (likelihood ratio negative)	0,22	0
Частота ЛП ¹ результатов	0,00137 (1:725)	0,000344 (1:2901)
Частота ЛО ² результатов	0,22	0

Оценка клинической эффективности программы неонатального скрининга на МВ

Для определения клинической эффективности неонатального скрининга, проведен сравнительный анализ течения МВ в двух группах. В первую группу вошли 19 больных МВ, выявленных по скринингу в 2006–2007 годах. Вторую группу составили 20 пациентов, диагностированных по клиническим симптомам заболевания. Сроки установления диагноза, ожидаемо достоверно отличались в

обеих группах: в первой группе (n=19) средний возраст составил 2 месяца, во второй группе (n=20) – 1,5 года ($0,177 \pm 0,026$ года против $1,469 \pm 0,281$ года; $p < 0,001$). Возраст появления первых клинических симптомов МВ, в обеих группах достоверно не отличался ($0,155 \pm 0,037$ года и $0,251 \pm 0,113$ года, $p = 0,87$) (табл. 6). Однако первые признаки заболевания у детей группы скрининга выявлены в самом дебюте, ввиду наблюдения и обследования в специализированном центре с первых месяцев жизни (табл. 6). Именно поэтому, средний возраст начала базисной терапии МВ (терапия панкреатическими ферментами, муколитическая и бронхолитическая, антибиотикотерапия, витаминотерапия, кинезитерапия) у детей в первой группе достоверно меньше, по сравнению с тем же показателем у детей второй группы ($0,449 \pm 0,17$ года против $1,768 \pm 0,47$ года, $p = 0,002$) (табл. 6).

В обеих наблюдаемых группах МВ преимущественно манифестировал появлением кишечного синдрома (у 72% детей). В группе I – отставанием в весе, незначительной стеатореей, но достаточно сохранной внешнесекреторной функцией поджелудочной железы, о чем свидетельствовал высокий уровень панкреатической эластазы (>200 мкг/мл) у большинства детей (у 62%). Респираторный синдром манифестировал появлением сухого затяжного кашля.

Таблица 6. Оценка статистической значимости различий (p) возраста проявлений признаков в исследуемых группах.

Признак	Группа I	Группа II	p
Возраст первых клинических проявлений болезни (годы)	$0,155 \pm 0,037$	$0,251 \pm 0,113$	0,87
Возраст постановки диагноза (годы)	$0,177 \pm 0,026$	$1,469 \pm 0,281$	0,000002
Возраст манифестации кишечного синдрома (годы)	$0,14 \pm 0,04$	$0,37 \pm 0,1$	0,25
Возраст манифестации респираторного синдрома (годы)	$0,28 \pm 0,046$	$0,49 \pm 0,16$	0,5
Возраст регистрации первого высева <i>Ps. aeruginosae</i> (годы)	$1,39 \pm 0,33$	$2,26 \pm 0,28$	0,09
Возраст регистрации первого высева <i>S. aureus</i> (годы)	$1,06 \pm 0,19$	$1,58 \pm 0,24$	0,07
Возраст начала специфического лечения (годы)	$0,449 \pm 0,17$	$1,768 \pm 0,47$	0,002

В группе II к моменту установления диагноза у всех детей наблюдалась декомпенсация кишечного синдрома (стеаторея, полифекалия, плохая прибавка в весе), т.к. большинство из них не получали адекватной заместительной терапии, в том числе панкреатическими ферментами. Бронхолегочные проявления также носили более тяжелый характер. У 74% детей из группы II в анамнезе отмечены неоднократные госпитализации по причине рецидивирующего бронхообструктивного синдрома (у 15%), бронхопневмоний (у 25%), ателектазов (у 5%).

Одним из критериев оценки тяжести течения заболевания является частота рецидивов кишечного и респираторного синдромов. Анализ клинических данных показал, что частота декомпенсации кишечного синдрома в первые три года жизни, как и частота обострений патологического процесса со стороны легких, выше у детей с поздней верификацией диагноза ($p < 0,05$) (табл. 7).

Таблица 7. Оценка статистической значимости различий (p) в частоте проявлений признаков в обеих группах больных МВ.

Клинические данные	Возраст	Средние значения показателя		p
		в группе I (n=19)	в группе II (n=20)	
Частота декомпенсации кишечного синдрома	на 1-м году	0,71±0,21	2,11±0,43	0,02
	на 2-м году	0,38±0,22	1,7±0,34	0,04
	на 3-м году	0,37±0,13	0,82±0,21	0,07
Частота обострений респираторного синдрома	на 1-м году	1,87±0,22	3,06±0,49	0,01
	на 2-м году	1,59±0,25	3,5±0,43	0,01
	на 3-м году	1,6±0,27	2,6±0,30	0,07

Как известно, прогрессирование заболевания легких у больных МВ в значительной мере обусловлено хронической респираторной инфекцией.

К трем годам микробиологический статус пациентов из первой группы был представлен хронической стафилококковой (*S.aureus*) инфекцией у 68%, хронической синегнойной (*Ps. aeruginosae*) инфекцией у 5,3% больных. У 5% при исследовании бронхиального секрета периодически высевалась стенотрофомонас мальтофилия (*St. maltophilia*).

Во второй группе все дети к трем годам имели хроническую обсемененность легких патогенной флорой, представленной у большинства (у 75%) золотистым стафилококком, синегнойной палочкой (31%). У 16% больных имела место комбинированная хроническая синегнойная и стафилококковая инфекция, 20% детей высевали *St. maltophilia*, у одного ребенка в анамнезе – хроническое инфицирование легких возбудителем буркхолдерия цепакия (*B. ceracia*).

В группе II высева синегнойной палочки *Ps. aeruginosae* отмечен у большего процента больных ($p>0,05$), однако возраст регистрации первого высева *Ps. aeruginosae* меньше в группе I ($1,39\pm0,33$ года и $2,26\pm0,28$ года; $p=0,09$) (табл.6). Возможно, это является следствием более ранней диагностики и комплексного обследования больных, выявленных по скринингу. Но не исключена вероятность перекрестного инфицирования пациентов, при посещении центра МВ, а значит и более раннего контакта с тяжелой патогенной флорой.

Для оценки физического статуса у детей обеих групп рассчитан и проведен сравнительный анализ показателей массы тела, роста, массо-ростового индекса (МРИ) при рождении, в возрасте 1 года, 2-х и 3-х лет жизни включительно (табл.8.).

Таблица 8. Сравнительная оценка показателей физического статуса у больных МВ в зависимости от возраста наблюдения.

Возраст	Показатель	Средние значения показателя		p
		в группе I	в группе II	
При рождении	Масса (% от нормы)	98,16±1,67	93,37±2,96	0,17
	Рост (% от нормы)	101±0,67	100,76±1,41	0,87
	МРИ(%)	93,00±1,35	88,0 ±2,08	0,07
Один год	Масса (% от нормы)	93,97±1,86	91,02±3,37	0,43
	Рост (% от нормы)	100,16±1,05	100,33±2,04	0,94
	МРИ (%)	96,11±1,77	93,33±5,61	0,55
Два года	Масса (% от нормы)	96,84±2,33	95,47±3,77	0,75
	Рост (% от нормы)	100,17±0,78	98,87±1,79	0,50
	МРИ (%)	98,63±1,78	100,56±2,2	0,35
Три года	Масса (% от нормы)	97,55±2,55	92,97±3,42	0,29
	Рост (% от нормы)	100,2±0,77	99,65±1,81	0,77
	МРИ (%)	98,88±2,23	95,31±1,96	0,55

Не было получено статистически достоверных отличий по антропометрическим показателям у пациентов обеих групп. Однако тенденция к более выраженным нарушениям по массе отмечена у детей из группы II. Доля больных МВ с уровнем МРИ ниже возрастной нормы, в группе II также преобладала по сравнению с группой I.

При оценке тяжести течения заболевания в обеих выборках по шкале Швахмана – Брасфильда, к возрасту трех лет, состояние всех детей группы I расценено как хорошее (со средней оценкой по шкале свыше 70 баллов). Больные характеризовались хорошей прибавкой в весе, компенсированным кишечным синдромом и редкими респираторными эпизодами. Рентгенологический индекс (РИ) в среднем составил 4,8±2,74 из 38 баллов.

В группе II к трем годам только у 16,7% детей состояние здоровья расценено как хорошее, у 50% больных отмечено удовлетворительное состояние (56-70 баллов), у 25% – среднетяжелое (41-55 баллов). 8,3% больных имели тяжелое течение МВ с оценкой по шкале Швахмана – Брасфильда менее 40 баллов. У этих больных отмечено двустороннее поражение лёгких с развитием выраженной дыхательной недостаточности, симптомы панкреатической недостаточности, нарушение нутритивного статуса.

К трем годам РИ по группе II составил 12,41±2,87 баллов, что достоверно хуже по сравнению с группой I (p<0,05) (табл.9).

Таблица 9. Оценка статистической значимости различий (p) в показателях рентгенологического индекса (в баллах) у детей обеих групп.

РИ	Группа I	Группа II	p
На 1-м году жизни	7,0±4,30	11,36±2,57	0,013
На 2-м году жизни	6,36±2,33	11,25±2,91	0,0008
На 3-м году жизни	4,85±2,74	12,41±2,87	0,000000

Для оценки частоты встречаемости одного из ранних осложнений МВ, синдрома потери солей (псевдо-Барттера синдром), при котором, в случае отсутствия своевременной терапии возможен летальный исход, проанализированы истории болезни всех 64-х детей, выявленных по неонатальному скринингу с 2006 по 2010 годы и наблюдающихся в московском центре МВ. Данное осложнение зафиксировано у 28 (43%) из 64 детей, преимущественно, на первом году жизни. Благодаря систематическому наблюдению и обследованию, гипозлектролитемия у всех детей вовремя диагностирована, летальных исходов по причине с-ма псевдо-Барттера в московском центре МВ не зафиксировано.

Выводы

Таким образом, оценка эффективности программы неонатального скрининга на муковисцидоз показала, что протокол скрининга ИРТ/ИРТ обладает высокой чувствительностью, не менее 96,77%, и специфичностью не менее 99,82%. Доля ложноположительных результатов скрининга составляет 0,00178 (1:558), величина ложноотрицательных результатов после каждого из двух последовательно проведенных этапов не превышает 3 % (0,03), что согласуется с зарубежными данными. Протокол скрининга ИРТ/ИРТ соответствует критериям достоверности, но уступает протоколу ИРТ/ДНК по чувствительности (96,77% против 100%); большей вероятности ложноположительных (0,00178 против 0,000344) и ложноотрицательных показателей (0,03 против 0). Несмотря на это, является оправданным для использования в РФ с экономической точки зрения.

Определены особенности клинической картины МВ у больных, выявленных по неонатальному скринингу. По сравнению с больными, диагностированными по симптомам заболевания, для них, в большей мере, характерно хорошее самочувствие с оценкой по шкале Швахмана-Брасфильда более 70 баллов. К трем годам отмечены достоверно лучшие показатели рентгенологического индекса ($p < 0,05$), достоверно меньшая частота обострений бронхолегочного процесса ($p < 0,05$), обусловленная более редкой частотой высева патогенной микрофлоры ($p < 0,05$); значимо меньшая частота декомпенсации кишечного синдрома ($p < 0,05$); лучшие показатели физического статуса, включая массо-ростовой индекс ($p > 0,05$).

Библиография

1. Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы. Методические рекомендации. Издание третье (первое 2001) переработанное и дополненное. Под редакцией Капранова Н.И., Каширской Н.Ю. М.: ООО «4ТЕ Арт». 2008. – с.124.
2. Шерман В.Д., Кусова З.А., Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. Массовый скрининг на муковисцидоз в Москве // Сборник материалов IX Национального конгресса по муковисцидозу "Муковисцидоз у детей и взрослых-2009". – Москва. – 2009. – С.91-92.
3. Кусова З.А., Петрова Н.В., Васильева Т.А., Каширская Н.Ю., Зинченко Р.А., Капранов Н.И. Результаты массового скрининга новорожденных на муковисцидоз в Москве // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т.9, №6. – С.26-30.
4. Кусова З.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Неонатальный скрининг на муковисцидоз // Медицинская генетика. – 2010. – Т.9. – С.36-40.
5. Кусова З.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Особенности массового скрининга новорожденных на муковисцидоз. // Российский медицинский журнал. – 2010. – Т.18. – №5. – С. 265-269.
6. Z. A. Kusova, N. V. Petrova, N. Y. Kashirskaya, N.I.Kapranov. Analysis of *CFTR* mutations in Russian newborns with first positive IRT test. CF newborn screening efficacy and diagnostic outcomes. // Materials of the 33th ECFS Conference, Valencia, Spain 16-19 June 2010. The Journal of Cystic Fibrosis. – 2010. – P.S8.
7. Castellani C, Southern KW, Brownlee K. et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. Journal of Cystic Fibrosis Volume 8 (2009) 153-173.
8. Cheillan D, Vercherat M, Chevalier-Porst F, Charcosset M, Rolland MO, Dorche C. False-positive results in neonatal screening for cystic fibrosis based on a three-stage protocol (IRT/DNA/IRT): should we adjust IRT cut-off to ethnic origin? J Inherit Metab Disease 2005;28:813-8.
9. Michael J. Rock, Elaine H. Mischler, Philip M. et al. Newborn Screening for Cystic Fibrosis Is Complicated by Age-Related Decline in Immunoreactive Trypsinogen Levels. J Pediatrics 1990;85:1001-1007
10. Priest FJ, Nevin NC. False positive results with immunoreactive trypsinogen screening for cystic fibrosis owing to trisomy 13. J Med Genet 1991;28:575-6.
11. Southern KW, Munck A, Pollit R, Castellani C et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. J of Cystic Fibrosis 2007; 6:57-65.

Черных В.Б.¹, Амелина Е.Л.², Красовский С.А.², Сорокина Т.М.¹, Шилейко Л.В.¹, Курило Л.Ф.¹, Петрова Н.В.¹, Степанова А.А.¹, Поляков А.В.¹

¹ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия

² ФГУ НИИ Пульмонологии ФМБА, Москва, Россия

Введение

Мутации гена муковисцидоза (*CFTR*) являются причиной классических и атипичных форм муковисцидоза (МВ) [1]. Ген *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*, муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости, МВТР) кодирует белок цАМФ-зависимого хлорного канала, располагающегося на апикальной мембране эпителиальных клеток, который участвует в обеспечении трансмембранного транспорта хлора, натрия и бикарбоната и других ионов, а также вовлечен в регуляцию воспалительной реакции, работу ионных каналов, мембранных рецепторов и цитоскелета [2, 3]. Основой патогенеза МВ является нарушение функции хлорного канала, регулирующего вязкость секрета, выделяемого экзокринными железами и клетками секреторного эпителия органов дыхания, пищеварения, потовых желез и урогенитального тракта. Дефект функции МВТР вызывает увеличение концентрации хлора, натрия и других ионов в просветах экзокринных желез и клеток секреторного эпителия, что приводит к повышению вязкости секрета, его застою, присоединению инфекции и хроническому течению воспалительного процесса в пораженных органах [1-3]. При этом семявыносящие пути имеют наибольшую чувствительность к снижению доли функционального белка МВТР, поэтому поражаются в первую очередь по сравнению с другими органами и тканями.

У мужчин мутации гена *CFTR* могут вызывать нарушение развития структур, формирующихся из вольфовых протоков (придатков яичек, семявыносящих протоков, семенных пузырьков), а также могут быть причиной снижения количества и качества мужских гамет [2-4]. Почти все мужчины с МВ инфертильны вследствие нарушения проходимости семявыносящих протоков (*vas deferens*). Нарушение пассажа секрета обнаруживают в эпидидимисе и семявыносящих путях, обструкцию которых отмечают у 95-98% мужчин, страдающих муковисцидозом [2, 3]. В отсутствие клинической картины МВ у мужчин мутации гена *CFTR* могут вызывать двухстороннюю и значительно реже – одностороннюю аплазию семявыносящих протоков (синдромы CBAVD и CUAVD, соответственно), расцениваемую как генитальная форма муковисцидоза [2-4].

Целью данной работы являлся сравнительный анализ генетических и фенотипических изменений у мужчин с классической и генитальной формой муковисцидоза.

Материалы и методы исследования

Группу обследованных пациентов составили 29 неродственных мужчин, из них – 8 больных муковисцидозом, 20 пациентов с синдромом CBAVD, 1 – с синдромом CUAVD. Всем больным диагноз МВ подтвержден результатами молекулярно-генетического обследования. Пациенты с синдромами CBAVD и CUAVD были отобраны в ходе крупномасштабного проспективного комплексного клинического и генетического обследования мужчин с бесплодием.

Спермиологическое исследование выполняли по стандартной методике согласно общепринятым рекомендациям ВОЗ (1999) [5]. Показатели эякулята, характеризующие спермиологический диагноз, оценивали согласно критериям вышеупомянутого руководства ВОЗ. Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток

(НПК) из осадка эякулята проводили по авторскому методу проф. Л.Ф. Курило, Патент на изобр. №2328736 от 01.02.2007, Россия, "Способ цитологической диагностики нарушения сперматогенеза"/Курило Л.Ф. / [6].

Молекулярный анализ выполняли на ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови. Анализировали наличие 14 частых мутаций гена *CFTR*, а также IVS8T (Tn) – полиморфизм в интроне 8. Детально методика молекулярно-генетического исследования была описана нами ранее [4].

Результаты и обсуждение

Возраст обследованных больных с МВ составил от 17 до 22 лет. На момент обследования никто из них не состоял в браке, двое планировали вступить в брак. Сведения о возрасте отсутствовали у четырех пациенток СBAVD, среди остальных обследованных мужчин данной подгруппы возраст варьировал от 24 до 42 лет, все из них обратились для медико-генетического обследования и консультирования по поводу первичного бесплодия в браке.

При андрологическом осмотре отмечено, что у всех больных с МВ половые органы сформированы по мужскому типу и развиты соответственно возрасту. Признаков гипогонадизма, недостаточности маскулинизации, гинекомастии не отмечено. Среднетяжелое течение МВ отмечено у всех больных, при этом соотношение его легочной и легочно-кишечной форм составило 6:2.

При спермиологическом исследовании у 6 из 8 пациентов с муковисцидозом были обнаружены сперматозоиды в сниженной концентрации: менее 20 млн., но более 10 млн/мл – олигозооспермия легкой ($n=2$), 1-10 млн/мл – среднетяжелой ($n=1$) и менее 1 млн/мл тяжелой ($n=3$) степени, а у 2 больных (оба из которых имели легочно-кишечную форму МВ) – их отсутствие (азооспермия) (Табл. 1). Отсутствие сперматозоидов или наличие единичных сперматозоидов в эякуляте (концентрация сперматозоидов от 0,0 до 0,1 млн/мл) при стандартном спермиологическом исследовании было установлено у пациентов в возрасте 20-22 лет и у одного (пациент Р.И.) из трех больных с МВ в возрасте 18 лет.

Объем эякулята был низким (менее 2 мл, т.е. олигоспермия) у всех больных с МВ, но объем 1 мл и менее, а также показатель кислотности (рН менее 6.5) был отмечен нами только у пациентов с азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени. Повышенная вязкость семенной жидкости и наличие тяжелой слизи выявлена только у двух больных (С.М. и С.Н.), которые имели объем эякулята (1,5 и 1,2 мл) и наибольшую из выявленных концентрацию (17,5 и 14,0 млн/мл) сперматозоидов, соответственно. Количество лейкоцитов в эякуляте у всех пациентов с МВ было в пределах нормы, что свидетельствует об отсутствии выраженного воспаления в мочеполовом тракте.

Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (НПК) был проведен у 7 пациентов с МВ. Его выполнение позволило обнаружить сперматозоиды в осадке эякулята у всех больных с МВ, в том числе при азооспермии (от единичных до сотен сперматозоидов), а также признаки частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях (в прелептотене-лептотене и зиготене) профазы I мейоза у 5 из 7 обследованных с помощью количественного кариологического анализа НПК пациентов, которые имели различные формы патозооспермии, от олигозооспермии легкой степени до азооспермии (Табл. 2).

Табл. 1. Данные спермиологического анализа у пациентов с муковисцидозом

Паци- ент, воз- раст	Фор- ма МВ	Мута- ции гена CFTR	Данные спермиологического исследования									
			Объем эяку- лята, мл	pH эяку- лята, ед.	Вяз- кость, мм	Коли- чество сперма- тозо- идов в 1 мл эякулята	Живые сперма- тозоиды, %	Подвижность сперматозоидов, %			Мор- фо- логи- чес- кие нор- маль- ные спер- ма- тозо- иды, %	Кон- цен- трация лейко- цитов в 1 мл эяку- лята
								a+b	c	d		
Норма			2,0 мл и более	7.2-7.8	До 20 мм	20 млн. и более	50% и более	a+b – 50% и более и/ или 'a' – 25% и более	c+d – менее 50%		30% и более	менее 1 млн./мл
С.М., 18 л.	Л	F508del/ 3849+ 10Kb C→T	1,5	7.8	50*	17,5	99	3 (0+3)	46	51	4	0,5
С.Н., 18 л.	Л	F508del/ IVS8-5T	1,2	7.4	45*	14,0	99	36 (18+18)	14	50	14	0,5
Р.И., 18 л.	Л	F508del/ CFTRdele 2,3 (21kb)	0,8	5.5	8	0,05	100	0	0	100	0	0,4
М.Т., 19 л.	Л	F508del/ 3849+10Kb C→T	1,8	7.4	10	7,2	94	13 (4+9)	21	66	0	0,5
Д.Х., 20 л.	ЛК	F508del/ F508del	0,2	6.1	5	0,0	-	-	-	-	-	0,15
З.А., 21 г.	ЛК	F508del/ -	1,8	6.0	2	0,0	-	-	-	-	-	0,3
Г.Е., 21г.	Л	F508del/ -	1,0	5.6	10	0,1	66	0	0	100	0	0,15
Д.М., 22 г.	Л	2143delT/-	0,35	5.9	20	0,05	100	0	0	100	0	0,15

Примечания: Л – легочная форма МВ, ЛК – легочно-кишечная форма МВ; * – в тяжях.

Табл. 2. Данные анализа незрелых половых клеток из осадка эякулята пациентов с муковисцидозом.

Пациент, возраст	Форма патозоо- спермии	Незрелые половые клетки (НПК) на стадиях их развития						
		Сперматоциты I				Спермато- циты II / сперма- тиды, %	Неразо- шедшиеся сперма- тиды, %	Неиденти- фициро- ванные половые клетки, %
		Прелеп- тотена- лептотена зиготена, %	Пахи- тена, %	Дипло- тена, %	Диакинез, MI, MII, %			
Норма		0,66±0,16	0,45±0,10	1,11±0,26	0,04±0,02	91,99±0,89	22,98±2,65	5,85±0,85
С.М., 18л.	OAT I	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.	н.и.
С.Н., 18л.	OAT I	5,8	0,7	0,0	0,0	66,0	31,0	27,5
Р.И., 18л.	OAT III	0,8	0,0	0,0	0,0	90,0	30,0	9,2
М.Т., 19л.	OAT II	7,2	0,0	0,6	0,0	63,8	29,0	28,4
Д.Х., 20л.	Аз	3,8	0,0	0,5	0,0	82,3	48,8	13,4
З.А., 21 г.	Аз	5,5	0,6	0,0	0,0	63,2	21,0	30,7
Г.Е., 21г.	OAT III	0,7	0,0	0,0	0,0	89,5	38,6	9,8
Д.М., 22г.	OAT III	2,9	0,0	0,0	0,0	79,4	11,0	17,7

Примечания: ОАТ – олигоастенотератозооспермия (I–III степени, соответственно), Аз – азооспермия.

Важно отметить, что признаки нарушения сперматогенеза были отмечены нами как среди пациентов с легочно-кишечной, так и с легочной формой муковисцидоза. В отличие от результатов спермиологического исследования, по данным количественного кариологического анализа незрелых половых клеток (НПК), проведенного у больных муковисцидозом, нами не было отмечено строгой зависимости изменений показателей семенной жидкости от формы МВ (легочной или легочно-кишечной) и возраста пациентов.

У всех больных МВ обнаружено наличие, по крайней мере, одной "тяжелой" мутации гена *CFTR*. Наиболее распространенная, в частности в Европейских популяциях, "тяжелая" мутация F508del, была обнаружена нами в 8 из 16 (50%) исследованных хромосом, что соответствует ее частоте встречаемости у российских больных МВ (51,9% хромосом). Из остальных типов изменений гена *CFTR* у пациентов, страдающих муковисцидозом, были выявлены: мутации 3849+10Kb C→T, *CFTR*dele2,3(21kb) и варьирующая мутация IVS8-5T (аллель 5T), в компаунд-гетерозиготном состоянии с мутацией F508del (n=2, n=1 и n=1, соответственно), а также мутация 2143delT в гетерозиготном состоянии (n=1). Если не учитывать полиморфизм IVS8-Tn у четырех пациентов нам удалось обнаружить только одну мутацию, таким образом, в 4 из 16 (25%) исследованных МВ хромосом мутация в гене *CFTR* осталась неизвестной.

Наилучшие показатели количества и качества сперматозоидов среди обследованных нами больных были выявлены у трех мужчин в возрасте 17-19 лет, страдающих легочной формой МВ. Помимо олигозооспермии легкой или среднетяжелой степени у данных пациентов диагностировали астенотератозооспермию, т.е. снижение подвижности и уменьшение доли морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте. Примечательно, что двое из них (С.М. и М.Т.) имели генотип F508del/3849+10Kb C→T, а у третьего (С.Н.) была обнаружена мутация F508del в сочетании с вариантом IVS8-5T в компаунд-гетерозиготном состоянии. Как мутация 3849+10Kb C→T, так и аллель IVS8-5T относится к "мягким" по тяжести мутациям гена *CFTR*, которые нарушают процесс сплайсинга и ведут к снижению уровня нормальных молекул белка MBTP (V класс мутаций). Относительная частота мутации 3849+10Kb C→T среди МВ хромосом без мутации F508del у российских больных с муковисцидозом составляет 1,5% [7, 8]. Показано, что генотип F508del/3849+10Kb C→T характерен для пациентов, имеющих легочную форму МВ и нормальные показатели хлоридов пота [9].

Среди обследованных нами больных с МВ наличие аллельного варианта IVS8T-5T (5T) было обнаружено только у одного больного (С.Н.). Данный аллель, является одновременно и полиморфизмом (так как встречается у 4-5% европейцев) и "мягкой" ("варьирующей") мутацией гена *CFTR*, высоко характерной для пациентов с синдромами CBAVD и CUAVD, и имеет низкую частоту среди больных с классической формой муковисцидоза [2]. Мутация F508del была обнаружена нами в сочетании с аллелем 9T, что свидетельствует об ее ассоциации с данным аллельным вариантом гена *CFTR*, наблюдаемая и другими авторами [7].

У обоих больных, имевших легочно-кишечную форму МВ, по данным стандартного спермиологического исследования диагностировали отсутствие сперматозоидов (азооспермию). У одного из них обнаружена мутация F508del в гомозиготном состоянии (пациент Д.Х.), у другого – в гетерозиготном состоянии (пациент З.А.), вторую мутацию у него выявить не удалось, возможно, что у данного больного присутствовала вторая 'тяжелая' мутация гена *CFTR*. Среди пациентов, у которых удалось обнаружить две мутации, у обоих больных (Р.И. и Д.Х.), имевших генотип "тяжелая" мутация/ "тяжелая" мутация, диагностировали азооспермию или тяжелую форму олигозооспермии. Показатель кислотности, объема эякулята, и концентрация сперматозоидов у них составляли (рН 5.5-6.1, 0,2-0,8 мл и 0-0,05млн./мл, соответственно), что указывало на наличие выраженного процесса обструкции семявыносящих путей.

Статистически достоверно оценить влияние возраста, формы МВ и *CFTR* генотипа на показатели эякулята нам не представлялось возможным вследствие незначительного размера выборки больных МВ. Однако полученные нами данные свидетельствуют в пользу определенного влияния возраста пациента, *CFTR* генотипа и формы МВ на степень нарушения проходимости семявыносящих протоков и показателей эякулята у мужчин с муковисцидозом. Так, умеренное снижение количества сперматозоидов отмечено у только пациентов в возрасте 18-19 лет, а у пациентов 20-22 лет установлено наличие азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени. Очевидно, что помимо возраста, на степень поражения семявыносящих протоков, гонад и сперматогенеза влияют тяжесть и тип *CFTR* мутаций/генотипа и другие факторы. Вероятно, наличие поражения поджелудочной железы (легочно-кишечной формы МВ) и тяжелого генотипа ("тяжелая" мутация/"тяжелая" мутация, например, гомозиготности по мутации F508del) ведут к более выраженному, и возможно раннему нарушению проходимости семявыносящих путей, а наличие изолированной легочной формы МВ и нетяжелого генотипа ("тяжелая" мутация/"мягкая" мутация, в частности F508del/3849+10Kb C→T и F508del/IVS8-5T) может быть ассоциировано с менее тяжелым и/или более поздним поражением репродуктивной системы у мужчин с МВ.

Среди мужчин с CBAVD мутации гена муковисцидоза или его аллель 5T обнаружены у них в 32,5% и 50% исследованных хромосом, соответственно. В целом, у 18 из 20 (90%) больных этой подгруппы выявлено наличие *CFTR* мутации в гетерозиготном состоянии и/или аллеля 5T, у 11 (55%) – сочетание мутации с аллелем 5T, и у 4 (20%) – гомозиготность по 5T аллельному варианту гена муковисцидоза (Табл. 3). Полученные нами результаты подтверждают данные других исследователей о высокой частоте аллеля 5T среди российских мужчин с генитальной формой МВ и редкой его встречаемостью у больных с МВ [2, 3].

Наиболее распространенная в Европе мутация гена муковисцидоза – F508del обнаружена нами в 6 из 40 (15%) исследованных хромосом у мужчин с CBAVD (Табл. 3). Во всех случаях она сочеталась с генотипом 5T/9T, что также подтверждает ее ассоциацию с аллелем 9T. Среди других типов мутаций гена *CFTR* у мужчин данной подгруппы выявлены: *CFTR*dele2,3(21kb) (n=3), 2143delT (n=1), 2184insA (n=1), G542X (n=1) и G85E (n=1). Все мутации *CFTR*dele2,3(21kb), а также мутации G542X и G85E, были обнаружены в присутствии аллельного варианта 5T. У двух обследованных пациентов с CBAVD не удалось обнаружить ни мутации, ни 5T аллеля. Наиболее частыми нарушениями в гене муковисцидоза у пациентов данной подгруппы являлись компаунд-гетерозиготность F508del/5T (n=6) и *CFTR*dele2,3(21kb)/5T (n=3), и гомозиготность по аллелю 5T (n=5), составившие 70% от всех *CFTR* генотипов в данной подгруппе пациентов.

Таким образом, у мужчин с генитальной формой МВ обнаружено отсутствие тяжелых генотипов (гомозиготности по "тяжелым" мутациям, например, F508del) и преобладание более мягких *CFTR* генотипов ("тяжелая" или "умеренная" мутация/"мягкая" ("варьирующая") мутация, "мягкая" ("варьирующая") мутация/"мягкая" ("варьирующая") мутация. Таким образом, полученные нами результаты молекулярно-генетического исследования подтверждают различия по распространенным генотипам между больными с классической формой и мужчинами с генитальной формой муковисцидоза и высокой частоте аллеля 5T среди последних [2, 3].

У 17 из 20 (85%) пациентов с двусторонним нарушением проходимости семявыносящих протоков диагностировали обструктивную форму азооспермии, у 3 (15%) – олигозооспермию тяжелой степени (OAT III), при этом концентрация сперматозоидов не превышала 0,1 млн/мл. Показатели объема эякулята и его кислотности (pH) варьировали от выраженного их снижения до нормы: 0,3 до 5,5 мл и от 6.0 до 7.4, соответственно. Проведение количественного кариологического анализа НПК у многих пациентов с CBAVD было затруднено в связи с незначительным объемом эякулята, отсутствием и/или малым количеством половых клеток в осадке. Среди пациентов данной подгруппы не было обнаружено блока сперматогенеза на допахитенных стадиях (прелептотена-лептотена, зиготена), однако оценить нарушения сперматогенеза в случае полного двустороннего нарушения проходимости семявыносящих путей без проведения биопсии не представлялось возможным. Кроме того важно отметить, что наличие единичных сперматозоидов и незрелых половых клеток в осадке эякулята обнаружено у части пациентов с азооспермией, что свидетельствует о частичном (одно- или двустороннем) сохранении проходимости семявыносящих путей у некоторых мужчин с CBAVD.

Экстрагенитальные проявления, характерные для муковисцидоза, были отмечены нами у 4 из 20 (20%) пациентов с двусторонним нарушением проходимости семявыносящих протоков, не имеющих классической формы МВ. У двух пациентов с CBAVD, имеющих генотип CFTRdele2,3(21kb)/5T, было отмечено в анамнезе наличие нетяжелого хронического бронхита; либо бронхита (при работе на вредном производстве, курении) и хронического гайморита. Нетяжелый хронический панкреатит или сочетание хронического бронхита с недостаточностью экскреторной функции поджелудочной железы выявлены у двух пациентов с генотипом F508del/5T. Таким образом, экстрагенитальные проявления МВ мы наблюдали только у больных с CBAVD, имеющих "тяжелые" мутации (F508del или CFTRdele2,3) в компаунд-гетерозиготном состоянии с аллелем 5T. У одного мужчины с бесплодием и олигозооспермией тяжелой степени, имеющего аллель 5T в гетерозиготном состоянии, диагностировали синдром CUAVD с поражением vas deferens слева в сочетании с аплазией ипсилатеральной почки. У 3 из 20 (15%) пациентов с CBAVD/ CUAVD выявлено сочетанное нарушение проходимости семявыносящих путей с поражением яичек (гипоплазия, крипторхизм или варикоцеле).

Данные спермиологического исследования свидетельствуют о частичном сохранении проходимости семявыносящих путей, как у больных МВ, так и у части пациентов с синдромом CBAVD, что подтверждает правильность термина 'аплазия vas deferens', а не их врожденного отсутствия. Отсутствие повышенной концентрации лейкоцитов в семенной жидкости согласно полученным нами результатам исследования, также как и данным других авторов свидетельствует о не воспалительном характере поражения мочеполового тракта и атрофии vas deferens [10, 11]. Выявленная нами зависимость объема эякулята и концентрации сперматозоидов от возраста больных МВ косвенно свидетельствует о прогрессировании обструкции семявыносящих путей с возрастом, по крайней мере, у части мужчин. Очевидно, что часть синдромов CBAVD/CUAVD и стертых форм МВ у мужчин, особенно в случаях с частично сохраненной проходимостью семявыносящих путей, остается не диагностированной.

Особого внимания и дальнейшего изучения требует нарушение сперматогенеза у больных муковисцидозом. Последние исследования свидетельствуют о то, что МВТР оказывает действие на различных уровнях: на проходимость семявыносящих путей; на процессы сперма- и спермиогенеза; на созревание сперматозоидов в придатке яичка; на оплодотворяющую способности сперматозоидов [3, 11].

Таблица 3. Данные обследования пациентов с CBAVD/CUAVD

Пациент, возраст	Форма обструкции	Экстрагени- тальные симптомы	Мутации гена CFTR	IVS8-Тп полимор- физм	Спермиологи- ческий диагноз
Н.Э., 38 л.	CBAVD	–	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
Л.А., н.с.	CBAVD	–	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
К.Д., н.с.	CBAVD	–	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
Д.А., 33 г.	CBAVD	панкреатит	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
Х.А., н.с.	CBAVD	–	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
Н.А., 26 л.	CBAVD	–	F508del/–	9T/5T	Азооспермия
С.А., 28 г.	CBAVD	бронхит, гайморит	CFTRdele2,3 (21kb)/–	7T/5T	Азооспермия
Д.В., н.с.	CBAVD	–	CFTRdele2,3 (21kb)/–	7T/5T	Азооспермия
Н.А., 37 л.	CBAVD	бронхит	CFTRdele2,3 (21kb)/–	7T/5T	OAT III
Г.Д., 33 г.	CBAVD	–	2143delT/–	7T/9T	OAT III
С.С., 42 г.	CBAVD	–	2184insA/–	7T/7T	Азооспермия
Б.И., 24 г.	CBAVD	–	G542X/–	5T/7T	Азооспермия
А.Д., 25 л.	CBAVD	–	G85E/–	5T/7T	Азооспермия
Ж.Д., 31г.	CBAVD	–	–/–	5T/5T	Азооспермия
В.И., 29 л.	CBAVD	–	–/–	5T/5T	OAT III
О.Л., 30 л.	CBAVD	–	–/–	5T/5T	Азооспермия
А.Р., 24 г.	CBAVD	–	–/–	5T/5T	Азооспермия
Т.Д., 29 л.	CBAVD	–	–/–	5T/9T	Азооспермия
Ш.Е., 35 л.	CBAVD	–	–/–	7T/7T	Азооспермия
К.А., 28 л.	CBAVD	бронхит, панкреатит	–/–	7T/7T	Азооспермия
Л.М., 40 л.	CUAVD	Аплазия левой почки	–/–	5T/7T	OAT II-III

Н.с. – нет сведений.

Однако для детального анализа факторов, влияющих на динамику, характер и степень выраженности обструкции и нарушения сперматогенеза у мужчин с классической формой муковисцидоза требуются исследования на больших выборках пациентов разного возраста.

Сравнительный анализ результатов обследования больных с классической и генитальной формой муковисцидоза указывает на то, что, несмотря на выраженные генотипические и фенотипические различия между данными группами пациентов, существует некоторая перекрываемость данных форм МВ у мужчин. Так, компаунд-гетерозиготность F508del/5T, являющаяся наиболее частым генотипом, обнаруженным среди пациентов с CBAVD, была выявлена нами и среди больных муковисцидозом. У части больных с CBAVD нами отмечены экстрагенитальные проявления МВ ('стертая' форма МВ). Хотя признаки нарушения проходимости семявыносящих путей были выявлены в обеих группах, только среди молодых мужчин, страдающих легочной формой муковисцидоза, отмечали умеренную форму олигозооспермии (OAT I-II), а в случаях азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени – показатели объема и кислотности (pH) эякулята находили ниже нормы, у пациентов с CBAVD – выявляли только азооспермию или олигозооспермию тяжелой степени и значительный разброс значений данных показателей.

Обнаруженные нарушения сперматогенеза у пациентов с МВ требуют дальнейшего исследования. Пациентам с синдромами CBAVD/CUAVD, мужчинам с бесплодием и азооспермией или с тяжелой формой олигозооспермии, имеющим экстрагенитальные проявления МВ, необходимо проведение дополнительного обследования для выявления стертых (субклинических) форм муковисцидоза. Важной практической рекомендацией является проведение криоконсервации сперматозоидов у мальчиков-подростков с МВ для дальнейшего их использования в программах с применением вспомогательных репродуктивных технологий (BPT).

Выводы:

- Проходимость семявыносящих путей частично сохранена у части молодых (до 20 лет) мужчин с МВ и у части пациентов с CBAVD, в том числе при азооспермии.
- Выявленные изменения показателей эякулята косвенно свидетельствуют о прогрессировании обструкции семявыносящих путей у пациентов с МВ с возрастом.
- У большинства мужчин с МВ выявлены признаки частичного блока сперматогенеза на допахитенных стадиях и нарушение созревания сперматид.
- У 25% пациентов с 'генитальной' формой муковисцидоза могут быть выявлены экстрагенитальные проявления муковисцидоза (стертая, атипичная форма МВ?).

Литература

1. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Петрова Н.В. Муковисцидоз. Достижения и проблемы на современном этапе. Мед. генетика. 2004; №9. С. 398-412.
2. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. Reprod. Biomed. Online. 2005; 10: 14-41.
3. Черных В.Б. Ген муковисцидоза и нарушение фертильности у мужчин. Андрология и генитальная хирургия. 2010; 4: 23-31.
4. Черных В.Б., Степанова А.А., Бескоровайная Т.С. и др. Частота и спектр мутаций и IVS8-Т-полиморфизма гена CFTR среди российских мужчин с бесплодием. Генетика. 2010; 46: 6: 844-852.
5. WHO (1999). Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-ое издание. Cambridge University Press, 1999. Пер. с англ. Р.А. Нерсисяна. Научн. ред. пер. проф. Л.Ф. Курило. М., 2001. 143 с.
6. Курило Л.Ф. Патент на изобретение №2328736 от 01.02.2007г., Россия, "Способ цитологической диагностики нарушения сперматогенеза".
7. Петрова Н.В. Молекулярно-генетические и клиничко-генотипические особенности муковисцидоза в российских популяциях: Автореф. дис. ... докт. биол. наук : 03.00.15. - М, 2009.
8. Castellani C., Cuppens H., Macek M.Jr. et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. J Cyst Fibros. 2008; 7: 3: 179-196.
9. Feldmann D., Couderc R., Audrezet M.P. et al. CFTR genotypes in patients with normal or borderline sweat chloride levels. Hum Mutat. 2003; 22 (4): 340.
10. Blau H., Freud E., Mussaffi H. et al. Urogenital abnormalities in male children with cystic fibrosis. Arch Dis Child. 2002; 87 (2): 135-138.
11. Xu W.M., Chen J., Chen H. et al. Defective CFTR-Dependent CREB Activation Results in Impaired Spermatogenesis and Azoospermia. PLoS ONE 2011; 6(5): e19120.

Красовский С.А.¹, Баранова И.А.², Демин Н.В.³, Амелина Е.Л.¹

¹ФГУ НИИ Пульмонологии ФМБА России, лаборатория муковисцидоза.

²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России, кафедра госпитальной терапии педиатрического факультета

³ НИИ ревматологии РАМН

Введение

Успехи в лечении муковисцидоза (МВ), наследственного тяжелого заболевания, обусловленного системной дисфункцией экзокринных желез, приводят к постоянному увеличению продолжительности жизни и доли пациентов старше 18 лет. Во взрослом возрасте состояние здоровья больных МВ усугубляется резко возросшей частотой как легочных, так и внелегочных осложнений. Профилактика, своевременное выявление и лечение осложнений – это задачи, наряду с поддержанием нутритивного и респираторного статуса, являются основными в ведении взрослых пациентов с МВ. Значительно доминируют по сравнению с детским возрастом частота возникновения нарушений углеводного обмена и остеопороза [1].

Проблема остеопороза при МВ актуальна: иммобилизация, как метод лечения большинства низкотравматичных переломов, приводит к нарушению эффективного откашливания мокроты, развитию мукостаза и обострению гнойного бронхита. Переломы ребер опасны развитием пневмоторакса и травмы легкого. Переломы и деформации позвонков приводят к развитию выраженного грудной кифоза, снижению эффективной легочной вентиляции и развитию легочной гипертензии. Уменьшение легочных объемов, нарушение геометрии грудной клетки и болевой синдром усугубляют дыхательную недостаточность. Легочная гипертензия со временем может привести к недостаточности кровообращения.

В России изучению остеопороза, уровня костных биохимических маркеров, витамина D у детей больных МВ посвящены единичные работы [2–6]. Исследование минеральной плотности костной ткани (МПК), частоты низкотравматичных переломов и деформаций позвонков у взрослых пациентов МВ в нашей стране ранее не проводилось.

Цель исследования: изучение взаимосвязи и закономерностей развития остеопороза при МВ. Задачи исследования: 1. Оценка частоты низких показателей МПК; 2. Выявление доли низкотравматичных периферических переломов и деформаций позвонков грудного и поясничного отделов позвоночника; 3. Определение уровня костных биохимических маркеров, витамина D в крови больных МВ. 4. Выявление взаимосвязи вышеперечисленных показателей между собой, с уровнем С-реактивного белка (СРБ), а также с различными клинико-генетическими, анамнестическими, антропометрическими и функциональными параметрами, характеризующими основное заболевание.

Материалы и методы

149 пациентов, наблюдаемых в центре муковисцидоза взрослых при ФГУ НИИ пульмонологии ФМБА России (г. Москва) были включены в это исследование. Диагноз МВ установлен на основании характерной клинической картины, данных положительного потового теста и/или обнаружения двух мутаций в гене трансмембранного регулятора муковисцидоза (МВТР). Все больные получали базисное лечение, согласно современным рекомендациям: отхаркивающие, желчегонные, в большинстве случаев ферменты поджелудочной железы, противовоспалительные препараты, такие как: макролиды в субингибирующих дозах, ингаляционные (ИГКС) и/или системные глюкокортикостероиды (СГКС), ингаляционные антибиотики. В исследование не включались больные, принимавшие терапию бисфосфонатами. Пациенты обследовались вне обострения основного заболевания.

Анамнестически (информация из карты больного и опрос пациента) оценивались: возраст и хлориды пота при установлении диагноза, форма заболевания, доза панкреатических ферментов, динамика массы тела и частота обострений бронхолегочной инфекции в течение двух лет до включения в исследование, проведение постоянной кислородотерапии, терапия СГКС и ИГКС, противоопухолевыми препаратами, гормональная контрацепция, сопутствующие осложнения МВ (легочная гипертензия, сахарный диабет, цирроз печени,), низкотравматичные переломы, а также микробиологический статус бронхиального дерева и продолжительность высева грам-отрицательной флоры. Регистрировали количество беременностей, состоявшихся родов, менархе, регулярность менструаций. Выраженность болевого синдрома в костях и спине оценивали по баллам (1 – боль после нагрузки или длительной ходьбы, 2 – боль при незначительной нагрузке или длительном пребывании в одном положении, 3 – боль при движении и перемене положения тела, 4 – боль при движении и в покое, и прерывающая ночной сон). Определялись антропометрические показатели (рост, масса тела). Нутритивный статус оценивался с помощью индекса массы тела (ИМТ, кг/м²), а уровень физической активности с помощью переведенного на русский язык International Physical Activity Questionnaire [7]. Выраженность одышки определялась по шкале MRC. Оценивалось количество потребляемого кальция в ежедневном рационе пациента.

Спирометрия проводилась одним специалистом в соответствии с критериями ERS/ATS на аппарате Master Screen Body (Erich Jaeger GmbH, Германия). Оценивались показатели: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁), отношение ОФВ₁/ФЖЕЛ, пиковая скорость выдоха (ПСВ). Изменение или сохранение функции поджелудочной железы подтверждалось на основании клинической картины (наличие или отсутствие стеатореи), или уровнем эндогенной эластазы. Генетическое исследование на поиск наиболее частых мутаций МВ в гене МВТР (муковисцидозный трансмембранный регулятор) было проведено 146 пациентам, в том числе небольшой доле больных был проведен прямой сиквенс гена. Сатурацию гемоглобина кислородом определяли методом пульсоксиметрии.

Определение МПК поясничного отдела позвоночника на уровне L1-L4, а у пациентов старше 19 лет и проксимального отдела бедра, проводилось методом двухэнергетической рентгеновской абсорциометрии (DXA) на денситометре QDR Hologic-4500A с использованием референсной базы NHANES III. МПК оценивалась в абсолютных (г/см^2) и относительных (Z-критерий) показателях. Z-критерий – это количество стандартных отклонений (SD) выше или ниже среднего показателя для лиц аналогичного возраста. Низкими считались показатели МПК при Z-критерии ≤ -2 SD. Исследование поясничного отдела позвоночника проведено 149 пациентам, проксимального отдела бедра – 102 больным.

40 пациентам (22 мужчинам, 18 женщинам) преимущественно с низкими показателями МПК была проведена рентгенография грудного и поясничного отдела позвоночника. На боковых спондилограммах грудного и поясничного отдела позвоночника измеряли передние (А), средние (М) и задние (Р) размеры (высоты) тел T_{IV} – L_{IV} , вычисляли индексы тел позвонков (соотношения А/Р, М/Р и отношение задней высоты тела исследуемого позвонка к задним высотам одного-двух вышележащих или одно-двух нижележащих тел позвонков (Р/Р1 или Р/Р2)). Оценивали степень передней, задней, двояковогнутой и компрессионной деформаций позвонков. Использовали полуколичественный метод Genant [8]: индекс тела позвонков $> 0,8$ (80%) свидетельствовал о нормальной конфигурации тела позвонка; 0,61–0,75 – о слабых деформационных изменениях; 0,61–0,75 – об умеренных деформациях и менее 0,61 – о выраженных остеопоротических деформациях тел позвонков, при исключении других невоспалительных и воспалительных изменениях позвоночника.

Уровни β -CrossLaps (маркер резорбции кости), остеокальцина (маркер формирования кости) определялись иммунохемилюминисцентным методом на анализаторе COBAS 6000 (ROCHE), концентрация 25(OH)D – на анализаторе LIAISON (DiaSorin). Оценка β -CrossLaps, остеокальцина проводилась у всех 64 пациентов, 25(OH)D – у 42, СРБ – 40 больных.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL). В зависимости от вида распределения (нормальное или ненормальное) мерами центральной тенденции и рассеяния служили среднее значение (М) + стандартное отклонение (SD) или медиана (Me) (интерквартильный размах). При сравнении средних значений или медиан применялись t-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни. Для оценки различий категориальных переменных в подгруппах использовался χ^2 или точный метод Фишера. Взаимосвязь двух признаков между собой оценивалась с помощью корреляционного анализа по Пирсону и Спирмену.

Результаты

Характеристика группы. В исследование были включены 75 мужчин и 74 женщины в возрасте от 16 до 42 лет, медиана 21(5,0) г. В таблице N 1 представлены показатели, характеризующие группу обследованных больных.

Таблица N 1. Клинико-anamnestические и антропометрические показатели взрослых больных муковисцидозом (n=149)

Показатель	В целом по группе	Мужчины	Женщины	P
Количество, n	149	75	74	
Возраст, min-мах, годы	21,0 (5,0) 16-42	21,0 (4,0) 17-32	21,5 (5,0) 16-42	0,30
Масса, min-мах, кг	51,8±11,2 32,0-105,0	55,7±12,5 32,0-105,0	48,0±8,3 33,5-65,0	<0,001
ИМТ, min-мах, кг/м ²	18,31±3,01 11,1-30,0	18,41±3,36 11,1-30,0	18,21±2,64 11,76-24,97	0,63
Возраст установления диагноза, min-мах, годы	5,9 (12,2) 0,1-43,0	3,5 (10,2) 0,1-32,5	9,0 (12,7) 0,1-43,0	0,021
Хлориды пота, min-мах, ммоль/л	98,8±34,6 40,0-300,0	97,3±39,6 40,0-300,0	100,1±29,7 48,0-180,0	0,69
Панкреатическая недостаточность, n (%)	110 (73,8)	57 (76,0)	53 (73,6)	0,583
Суточная доза панкреатических ферментов по липазе, min-мах, Ед/кг	6368±3439 0,0-17105	6291±3003 0,0-14200	6454±3894 0,0-17105	0,79
Частота обострений бронхолегочной инфекции за два года до включения в исследование, min-мах, n	6,0 (5,0) 0,0-20,0	6,0 (4,0) 0,0-20,0	7,0 (6,0) 2,0-20,0	0,198
Динамика массы тела за два года до включения в исследование, min-мах, кг	4,0 (3,5) 0,0-21,0	4,0 (3,0) 0,0-21,0	3,0 (3,75) 1,0-19,0	0,082
Прием СГКС, n, (%)	37 (24,8)	21 (28,0)	16 (21,6)	0,373
эпизодически, n, (%)	24 (16,1)	12 (16,0)	12 (16,2)	0,975
постоянно длительно, n, (%)	13 (8,7)	9 (12,0)	4 (5,4)	0,129
Прием ИГКС, n, (%)	61 (40,9)	30 (40,0)	31 (41,9)	0,789
Прием препаратов кальция и витамина Д3, n, (%):	38 (25,5)	21 (28,0)	17 (23,0)	0,812
непостоянно, n, (%)	22 (14,8)	14 (18,7)	8 (10,8)	0,161
постоянно, n, (%)	16 (10,7)	7 (9,3)	9 (12,2)	0,478
Прием кальция с пищей, min-мах, мг/сутки	850 (350) 400-2250	850 (300) 400-2200	850 (300) 450-2250	0,974
Сахарный диабет, n (%)	18 (12,1)	11 (14,7)	7 (9,5)	0,30
Цирроз печени, n (%)	9 (6,0)	8 (10,7)	1 (1,4)	0,039
Легочная гипертензия, n (%)	21 (14,1)	12 (16,0)	8 (10,8)	0,253

83 больных (55,7%) имели низкую массу тела (менее 18,5 кг/м²), и только 66 (44,3%) ИМТ 18,5 кг/м² и выше. Почти каждый четвертый пациент (23,6%) имел выраженный дефицит массы тела (ИМТ менее 16,0 кг/м²).

Все пациентки отмечали наличие месячных, 81,1% их регулярность. Средний возраст менархе 14,1±1,5г. Только 5 женщин принимали гормональную контрацепцию. У 9 пациенток в анамнезе одна беременность, у 4 по две. У 9 беременностей закончились родами.

Доминирование грам-отрицательной флоры в инфицировании респираторного тракта является особенностью течения МВ во взрослом возрасте, в нашем исследовании она была выявлена у 85,2% больных. По микробиологическому пейзажу мокроты выделено пять групп пациентов (таблица N 2).

Таблица N 2. Характеристика патологической микрофлоры дыхательных путей

Микрофлора	В целом по группе	Мужчины	Женщины	P
Монокультура <i>Staphylococcus aureus</i> , n, (%)*	22 (14,8)	11 (14,7)	11 (14,9)	0,723
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> в монокультуре или в сочетании с <i>Staphylococcus aureus</i> ***, n, (%)	92 (61,7)	42 (56,0)	50 (67,6)	0,621
<i>Achromobacter</i> sp.** в монокультуре или в сочетании с <i>Pseudomonas aeruginosa</i> и/или <i>Staphylococcus aureus</i> ***, n, (%)	5 (3,4)	2 (2,7)	3 (4,1)	1,0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> в монокультуре или в сочетании с <i>Pseudomonas aeruginosa</i> и/или <i>Staphylococcus aureus</i> ***, n, (%)	5 (3,4)	2 (2,7)	3 (4,1)	1,0
<i>Burkholderia cepacia</i> в монокультуре или в сочетании с вышеперечисленными микроорганизмами, n,*** (%)	25 (16,8)	18 (24,0)	7 (9,5)	0,04

*-исключая MRSA, **– *Achromobacter* sp: *Achromobacter xylosoxidans*/*xylosoxidans* и *Achromobacter xylosoxidans*/*denitrificans*, ***-включая MRSA

Показатели респираторного статуса представлены в таблице N 3. У 118 пациентов (80,3%) выявлена бронхиальная обструкция различной степени, в структуре которой большую часть составляют выраженные (ОФВ1 от 35 до 49 % от должного) и резко выраженные (ОФВ1 менее 35% от должного) обструктивные изменения, которые обнаруживаются у 42 и 26 пациентов соответственно, что суммарно составляла 45,6 % от общего числа пациентов.

Таблица N 3. Характеристика респираторного статуса обследуемых больных (n=149)

Показатель	В целом по группе	Мужчины	Женщины	P
ОФВ ₁ , min-max, % от должного,	57,3±23,3 18,0-115,0	56,2±22,6 20,0-115,0	58,2±24,2 18,0-110,0	0,61
ФЖЕЛ, min-max, % от должного	76,0±19,5 30,0-144,0	75,4±19,9 40,0-120,0	76,4±19,2 30,0-144,0	0,76
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, min-max, %	63,0±13,9 36,0-95,9	61,1±12,5 36,0-95,9	64,8±14,9 36,0-92,0	0,105
ПСВ, min-max, % от должного	75,7±22,0 20,0-129,0	74,5±21,0 30,0-129,0	76,8±23,0 20,0-118,0	0,546
Потребность в кислородотерапии, n, (%)	12 (8,1)	7 (9,3)	5 (6,8)	0,530
SpO ₂ , min-max, %	95,0 (3,0) 80,0-98,0	95,0 (3,0) 80,0-98,0	95,5 (3,75) 84,0-98,0	0,305
Одышка по шкале MRC, баллы	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	0,479
Физическая активность, min-max, баллы	2,0 (1,0) 1,0-3,0	2,0 (1,0) 1,0-3,0	2,0 (1,0) 1,0-3,0	0,302

При генетическом исследовании в 20,2% случаев мутантный аллель не был идентифицирован. Выявлены 24 мутации, которые формировали 37 различных генотипов. Аллельная частота мутаций с долей более 1% представлена в порядке убывания: F508del 50,3%, CFTRdele2,3 (21kb) 7,2%, 3849+10kbC>T 4,8%, 2143delT 3,8%, 2184insA 2,4%, N1303K 1,7%, а мутации 394delTT, R334W и E92K по 1,0%. «Тяжелые» генотипы, т.е. генотипы обязательно включающие две «тяжелые» мутации: F508del, CFTRdele2,3 (21kb), 2143delT, 2184insA, W1282X, 394delTT, 3821delT, N1303K, W1282R, 604insA, G542X, D572N, 4015delA, 622-1G>C, L1335P, 712-1G>T, dup6b>10 выявлены у 72 (48,3%) пациентов. «Мягкие» генотипы, т.е. генотипы включающие хотя бы одну «мягкую» мутацию: 3849+10kbC>T, R334W, L138ins, R347P, E92K, S1159P, G461E определялись у 24 (16,1%) больных.

МПК. Результаты измерения МПК в поясничном отделе позвоночника, шейке бедра и проксимальном отделе бедра в целом представлены в таблице № 4. Наиболее выраженные изменения наблюдались в поясничном отделе позвоночника: Z-критерий < -2 SD определен у 61 больных (40,9%), в диапазоне от -2 до -1 SD - у 52 больных (34,9%), > -1 SD - только у 36 пациентов (24,2%). Низкие показатели МПК (< -2 SD) шейки бедра выявлены у 23 больных (22,5%), в 31,4 % случаев (32 больных) Z-критерий составил от -2 до -1 SD, в 46,1% (47 пациентов) - > -1 SD. Похожее распределение частот в указанных диапазонах наблюдалось при оценке общего МПК проксимального отдела бедра: 18,6%, 33,3% и 48,0%. Снижение МПК на 2 SD и более хотя бы в одной области измерения отмечено у 65 пациентов (43,6%), во всех областях - у 44 больных (29,5%). МПК в диапазоне от -1 до -2 SD хотя бы в одной области измерения определено у 53 пациентов (35,6%). Каждый шестой пациент (15,4%) имел выраженное снижение МПК (< -3 SD), из них у 9 больных (6,0%) Z-критерий был менее - 4 SD и в двух случаях (1,3%) - ниже -5 SD.

Таблица N 4. МПК взрослых больных муковисцидозом (n=149)

Показатель	общий по группе	Мужчины	Женщины	P
Поясничный отдел позвоночника				
МПК, г/см ²	0,859±0,142	0,841±0,141	0,877±0,143	
Z-критерий	-1,74±1,32	-2,10±1,28	-1,39±1,28	0,001
Шейка бедра				
МПК, г/см ²	0,755±0,140	0,775±0,158	0,736±0,121	
Z-критерий	-0,97±1,14	-0,97±1,21	-0,97±1,09	0,998
Проксимальный отдел бедра в целом				
МПК, г/см ²	0,825±0,136	0,832±0,156	0,819±0,116	
Z-критерий	-1,04±1,03	-1,11±1,10	-0,97±0,98	0,496

В таблице N 5 представлены значимые корреляции МПК с основными признаками в исследуемой группе.

Таблица N 5. Значимые корреляции

Варианта	Поясничный отдел позвоночника		Шейка бедра	
	r	p	r	P
Пол (1-мужчины, 2-женщины)	0,27	0,001	NS	
Возраст установления диагноза, годы	0,17	0,042	NS	
ОФВ ₁ , % от долж.	0,53	<0,001	0,74	<0,001
ФЖЕЛ, % от долж.	0,46	<0,001	0,66	<0,001
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	0,46	<0,001	0,54	<0,001
ПСВ, % от долж.	0,47	<0,001	0,56	<0,001
ИМТ, кг/м ²	0,56	<0,001	0,60	<0,001
Прием СГКС, %	-0,43	<0,001	-0,32	0,001
SpO ₂ , %	0,48	<0,001	0,60	<0,001
Одышка по MRC, баллы	-0,45	<0,001	-0,65	<0,001
Физическая активность, баллы	0,45	<0,001	0,49	<0,001
Грам-отрицательная инфекция, n	-0,29	<0,001	NS	
Потребность в кислородотерапии, n	-0,19	0,03	-0,25	0,017
Легочная гипертензия, n	-0,21	0,013	-0,26	0,01
Прием кальция с пищей, мг/сутки	0,25	0,03	0,25	0,017
Частота обострений бронхолегочной инфекции, n	-0,21	0,11	-0,20	0,049
Боли в спине, баллы	NS		0,2	0,048
Боли в костях, баллы	NS		-0,30	0,002
Менархе, годы	-0,36	0,005	-0,33	0,024
Регулярность месячных	0,48	<0,001	0,35	0,014

Переломы и деформации

По данным анамнеза периферические низкотравматичные переломы возникали у 12 больных (8,2%). Возникновение периферических переломов коррелировало с МПК позвоночника ($r = -0,17$, $p = 0,04$), не выявлена взаимосвязь периферических переломов с полом пациентов, антропометрическими, клинико-генетическими и функциональными данными.

Деформации тел позвонков были определены у 16 из 40 обследованных пациентов (40%). Они преимущественно (14 больных) локализовались в нижнегрудном (Th8-Th12) отделе позвоночника, и лишь у двоих пациентов определена деформация второго поясничного позвонка. Пациенты с деформациями позвонков имели более низкие показатели МПК поясничного отдела позвоночника по Z-критерию ($-3,04 \pm 1,16$ SD) по сравнению с больными без деформаций ($-1,42 \pm 1,13$ SD, $p < 0,001$). Среди пациентов с Z-критерием ≤ -2 деформация позвонков отмечалась у 63,6% больных. Частота деформаций не различалась у мужчин и женщин. В большинстве случаев (13 пациентов) встречалась передняя клиновидная деформация. У 8 пациентов определена слабая деформация позвонков, у 7 – умеренная, у 1 – выраженная. 3 больных имели умеренную деформацию двух и более позвонков.

Уровень остеокальцина, β -CrossLaps, 25(ОН)D

Средние показатели остеокальцина и β -CrossLaps и доля пациентов вне референсных значений представлены в таблице N 6. Среди вариантов различных комбинаций изменений уровня костных биомаркеров доминирующим являлось сочетание повышенного уровня β -CrossLaps с нормальным (57,8%) или пониженным (23,4%) уровнем остеокальцина (суммарно 81,2% от всех больных).

Уровень β -CrossLaps коррелировал с полом пациента (выше у мужчин, $r = -0,36$, $p = 0,04$), МПК шейки бедра ($r = -0,336$, $p = 0,03$) и проксимального отдела бедра в целом ($r = -0,356$, $p = 0,02$).

Средняя концентрация 25(ОН)D по группе составила $16,8 \pm 8,2$ нг/мл. Недостаточность витамина D, т.е. уровень менее 30 нг/мл, имели 38 (90,5%) больных, в том числе у 9 (21,4%) выявлен глубокий дефицит витамина D (< 10 нг/мл). Различий между полами в уровне 25(ОН)D по группе не выявлено. У пациентов, не получающих препараты витамина D средняя концентрация 25(ОН)D составила $15,6 \pm 7,9$ нг/мл; у больных с нерегулярным приемом витамина D – $15,7 \pm 6,0$ нг/мл, а с регулярным приемом – $21,2 \pm 9,3$ нг/мл. Имелась тенденция к более высоким показателям 25(ОН)D в группе лиц с регулярным приемом препаратов витамина D ($p = 0,084$).

Уровень 25(ОН)D был взаимосвязан с «тяжестью» генотипа пациента. Так средний уровень пациентов с «мягким» генотипом составил $23,9 \pm 6,8$ нг/мл, что достоверно выше ($p = 0,022$), чем у пациентов с «тяжелым» генотипом, при котором он составлял $14,7 \pm 8,3$ нг/мл. Взаимосвязи концентрации 25(ОН)D с костными биохимическими маркерами, МПК, частотой переломов, болевым синдромом не выявлено.

Как уровень костных биохимических маркеров, так и 25(ОН)D не был взаимосвязан с большинством клинико-функциональных и антропометрических показателей.

Таблица N 6. Уровень остеокальцина и β -CrossLaps у взрослых больных муковисцидозом (n=64)

Костные биохимические маркеры	Пол	Референсные значения, нг/мл	Среднее $\pm$ SD, (min-max), нг/мл	Доля больных со значениями		
				ниже нормы, %	в пределах нормы, %	выше нормы, %
Остеокальцин	Мужской	18-30 лет: 24,0-70,0, 30-50 лет: 14,0-42,0	31,2 $\pm$ 17,7 (4,9-71,4)	38,7	58,1	3,2
	Женский	до 55 лет: 11,0-43,0	24,1 $\pm$ 15,0 (2,4-65,9)	18,2	75,8	6,1
β -CrossLaps	Мужской	0-0,3	0,75 $\pm$ 0,41 (0,14-1,79)	---	9,7	90,3
	Женский	0-0,28	0,51 $\pm$ 0,31 (0,1-1,41)	---	18,2	81,8

Обсуждение

Проведенное нами исследование продемонстрировало высокую частоту низких показателей костной массы и выраженные изменения уровня костных биохимических маркеров и витамина D у взрослых больных муковисцидозом: почти у половины обследованных пациентов (43,6%) выявлена низкая костная масса (Z-критерий ≤ -2), у 85,9% повышение костной резорбции, у 90,5% снижение уровня витамина D.

Полученная взаимосвязь между состоянием МПК, респираторным и нутритивным статусом говорит о закономерности снижения костной массы у больных с более тяжелым течением МВ. Такие же данные получены в подавляющем большинстве ранее проведенных исследований [9,10,11].

Ведущим в патогенезе снижения костной массы является выраженность системного воспаления, которая ассоциировано с хроническим инфицированием дыхательных путей грам-отрицательной флорой, особенно *V.серасiа*. Это приводит к усилению системного воспалительного стресса, который в свою очередь провоцирует увеличение костной резорбции и, соответственно, снижение МПК. В нашем исследовании, только у 9,5% пациентов с хронической стафилококковой инфекцией выявлена низкая костная масса, в то время как аналогичная доля среди больных с хронической грам-отрицательной инфекцией составила 49,6% ($p=0,002$). Пациенты, инфицированные *V.серасiа*, имели более низкие показатели МПК по сравнению с остальными больными. Наши результаты подтверждают данные Haworth C.S. с соавт., продемонстрировавшие более высокий уровень IL-6 (биохимического маркера системного воспалительного процесса) и выраженную ежегодную потерю костной массы при колонизации *V.серасiа* по сравнению с *Ps.aeruginosa* [12].

Выраженное системное воспаление, возникающее при обострениях гнойно-обструктивного бронхита кроме непосредственного влияния на МПК, по ряду опосредованных причин (снижение аппетита и повышение катаболизма) приводит к снижению ИМТ. Другой группой причин, приводящих к низкой массе тела у взрослых больных МВ является синдром мальабсорбции вследствие развития панкреатической недостаточности, а также высокая частота нарушений углеводного обмена и снижение белковосинтетической функции печени при развитии ее поражения. Необходимо отметить, что доминирующее влияние на ИМТ, оказывает именно состояние респираторного статуса, а не собственно наличие панкреатической недостаточности, что подтверждается полученной тесной взаимосвязью между ИМТ и $ОФВ_1$, ($r=0,535$, $p<0,001$), в то время как между ИМТ и панкреатической недостаточностью она отсутствовала.

Высокая частота бронхолегочных обострений, неконтролируемое течение бронхолегочной инфекции, развитие дыхательной недостаточности зачастую приводит к гиподинамии и/или назначению СГКС.

Таким образом, несмотря на влияние многих факторов на снижение МПК можно говорить о том, что самым значимым среди них является активность инфекционно-воспалительного процесса в легких и связанное с ним выраженное системное воспаление. Оно непосредственно инициирует костную резорбцию и опосредованно определяет формирование низкой массы тела, низкую физическую активность и назначение СГКС, которые сами по себе являются независимыми факторами риска снижения костной массы.

Нами было определено значительное изменение костного обмена: повышение процессов резорбции при малой трансформации со стороны формирования костной ткани, что отражалось в выраженном увеличении β -CrossLaps и нормальных или несколько сниженных показателях остеокальцина. Схожие результаты были получены в других исследованиях у больных МВ [2, 13, 14]. Это свидетельствует о дисбалансе и асимметричности костного обмена с превалированием костной резорбции. Очевидно, что изменение уровня остеокальцина вслед за значительным ростом β -CrossLaps не выражено и не выходит за пределы нормальных величин. Так среди пациентов, у которых было выявлено повышение β -CrossLaps, только у 5,8% определялся симметричный рост остеокальцина выше референсных показателей.

Превалирование костной резорбции над формированием со временем приводит к снижению костной массы. В нашем исследовании впервые определена взаимосвязь β -CrossLaps с МПК проксимального отдела бедра у взрослых больных МВ.

В нашей работе показано выраженное увеличение маркера костной резорбции и более глубокое снижение МПК у лиц мужского пола, что говорит о более выраженной костной резорбции у мужчин. Тем самым можно отнести мужской пол к группе риска по развитию низкой костной массы.

90,5% больных в проведенном исследовании имели снижение уровня 25(ОН)D. Он может быть обусловлен: уменьшением абсорбции витамина D в кишечнике вследствие панкреатической экзокринной недостаточности, нарушением гидроксилирования витамина D в печени, снижением уровня витамин D-связывающего белка, избеганием пребывания на солнечном свете из-за фотосенсибилизации при приеме некоторых антибиотиков, недостатком жировой ткани, накапливающей витамин D [15]. Как и в других исследованиях [14, 16] не выявлено корреляции уровня 25(ОН)D с МПК. Только «мягкость» генотипа и анамнестический прием препаратов витамина D оказывал влияние на более высокий уровень 25(ОН)D среди этих пациентов, но показатели МПК у них не отличались от остальных больных.

Мы посчитали, что наиболее актуальным в поиске генотипо-фенотипических связей является сравнение «тяжелых» (раннее развитие панкреатической недостаточности) и «мягких» генотипов (позднее развитие или отсутствие панкреатической недостаточности), а не оценке влияния отдельных мутаций, как в ранее проведенных работах [4, 5, 10, 16]. Единственным параметром, взаимосвязанным с «тяжестью» генотипа явился уровень 25(ОН)D, это подтверждает тезис о том, что «тяжесть» генотипа тесно коррелирует с панкреатической недостаточностью, но не с поражением других органов и систем, где эта взаимосвязь намного слабее.

В работах зарубежных авторов частота низких показателей в поясничном отделе позвоночника или общем показателе по бедру оказалась меньше, чем в нашей выборке. МПК по Z-критерию менее -2 SD определена в исследовании Haworth C.S. с соавт. у 34% пациентов [16], а в работе King S.J. с соавт. [10] - только у 17% больных.

Мы можем предположить несколько факторов, обуславливающих высокую частоту низкой костной массы у обследованных нами пациентов. Несмотря на сопоставимые показатели $ОФВ_1$, в исследуемой выборке с данными предыдущих исследований, мы отметили значительно более низкие показатели ИМТ в нашей группе по сравнению с зарубежными данными: так в исследовании King S.J. с соавт. (2005) ИМТ составил $21,4 \pm 2,6$ кг/м², Haworth C.S. с соавт. (1999) – $21,2 (2,5)$ кг/м². Низкие показатели ИМТ у взрослых больных МВ в России обусловлены, вероятно, отсутствием дополнительного зондового питания через гастростому, а также редким или эпизодическим использованием гиперкалорийных смесей в рационе пациентов. Более низкий уровень 25(OH)D в настоящей работе, по сравнению с исследованием Haworth C.S. с соавт. – $19,0 (11,1)$ нг/мл, и King S.J. с соавт. – $24,0 (14,0-33,4)$ нг/мл, возможно, связан с более низким ИМТ, а также в подавляющем большинстве случаев (74,5%) отсутствием профилактического приема препаратов витамина D до включения в исследование в нашей группе.

Возможно, что дополнительными факторами, влияющими на полученные результаты, является относительно высокий процент больных, инфицированных В.серасiа (16,8%) и принимающих СГКС (24,8%) в нашей работе.

Выводы

Низкая МПК позвоночника и/или бедренной кости встречается почти у половины взрослых больных МВ и взаимосвязана с развитием периферических переломов. У пациентов с низкой костной массой деформации грудных и поясничных позвонков встречаются в 63,6% случаев. Определена взаимосвязь МПК с респираторным и нутритивным статусом больных.

Лица мужского пола имеют более выраженную костную резорбцию и более низкие показатели МПК, что относит их группе риска по развитию остеопороза.

Полученные результаты определяют необходимость проведения антирезорбтивной терапии и необходимость применения препаратов витамина D лечении больных с низкой МПК и переломами, а также важность поддержания функции легких и питательного статуса для предупреждения снижения костной массы.

Литература

1. Cystic Fibrosis Foundation, Patient Registry 2009 Annual Report, Cystic Fibrosis Foundation, Bethesda, Md, USA, 2011.
2. Ашерова И.К., Ершова О.Б. Костная минеральная плотность у больных муковисцидозом Ярославского регионального центра. Пульмонология 2006; Приложение. 15лет Российскому центру муковисцидоза: 47-51.
3. Горинова Ю.В., Симонова О.И., Щеплягина Л.А. Остеопения при муковисцидозе у детей. В кн.: «Муковисцидоз у детей и взрослых». Сборник статей и тезисов. Ярославль. 2007: 59.
4. Капустина Т.Ю., Капранов Н.И. Состояние минеральной плотности костной ткани у пациентов с муковисцидозом. Педиатрия 2008; 87(5):36-41.
5. Ожегов А.М., Симанова Т.В. Механизмы формирования остеопении у больных муковисцидозом. В кн.: Материалы IX Национального конгресса по муковисцидозу. «Муковисцидоз у детей и взрослых-2009».М.; ЗАО Рекламно-издательская группа МегаПро. 2009: 54-56.
6. Соболенкова В.С. Системный анализ в ранней диагностике и лечении остеопенического синдрома при муковисцидозе: Автореф. дис....канд. мед. наук. Тула; 2009, с.21.
7. www.ipaq.ki.se
8. Genant H.K., Wu C., van Kuijk et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. JMBR, 1993; 8 (9): 1137-1148.
9. Haworth C.S., Selby P.L., Webb A.K., et al. Low bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Thorax 1999; 54:961-967.
10. King S.J, Topliss D.J, Kotsimbos T., et al. Reduced bone density in cystic fibrosis: delta F508 mutation is an independent risk factor. Eur Respir J 2005; 25: 54-61.
11. Stephenson A., Jamal S., Dowdell T. et al. Prevalence of vertebral fractures in adults with cystic fibrosis and their relationship to bone mineral density. Chest 2006; 130: 539-544.
12. Haworth C.S., Selby P.L., Webb A.K., et al. Inflammatory related changes in bone mineral content in adults with cystic fibrosis. Thorax 2004; 59: 613-617.
13. Aris R.M., Ontjes D.A., Buell H.E., et al. Abnormal bone turnover in cystic fibrosis adults. Osteoporosis International 2002; 13(2): 151-157.
14. Flohr F., Lutz A., App E.M. et al. Bone mineral density and quantitative ultrasound in adults with cystic fibrosis. European Journal of Endocrinology 2002. 146: 531-536.
15. Hall W.B., Sparks A.A., Aris R.M. Vitamin D deficiency in cystic fibrosis. Int J Endocrinol 2010; 2010: 218691.
16. Haworth C.S., Selby P.L., Webb A.K., et al. Low bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Thorax 1999; 54: 961-967.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ.

Шагинян И.А.¹, Капранов Н.И.², Чернуха М.Ю.¹, Алексеева Г.В.¹, Семькин С.Ю.³,
Аветисян Л.Р.¹, Каширская Н.Ю.², Пивкина Н.В.¹, Данилина Г.А.¹, Батов А.Б.¹,
Бусуек Г.П.¹

¹ ГУ НИИЭМ им.Н.Ф. Гамалеи РАМН

² Московский центр муковисцидоза

³ Детская республиканская больница

Введение

Муковисцидоз или кистозный фиброз (cystic fibrosis) поджелудочной железы является наследственным аутосомно-рецессивным заболеванием, частота распространенности которого среди белого населения составляет в среднем 1:2500. Болезнь поражает различные системы организма и имеет разнообразную симптоматику, однако продолжительность жизни, в основном, зависит от степени поражения органов дыхания условнопатогенными микроорганизмами. В патогенезе инфекционных осложнений основную роль играют такие микроорганизмы как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia* [1, 3, 14]. В 1958 г. продолжительность жизни больных муковисцидозом составляла 6 месяцев, в настоящее время с совершенствованием методов диагностики и возможностей современных методов лечения продолжительность жизни в странах Европы и Америки приближается к 40 годам, а в России – 27 лет. Однако основной причиной летальных исходов у 90–95% больных муковисцидозом являются инфекционные процессы в легких, часто с генерализацией инфекции, то есть с развитием сепсиса.

Целью данной работы являлось изучение микрофлоры нижних дыхательных путей разных возрастных групп детей больных муковисцидозом в динамике для выявления ее изменчивости и определения возможных источников инфекционных осложнений.

Материалы и методы

Проанализированы 114 историй болезней больных детей муковисцидозом разных возрастных групп, проживающих в г. Москве и Московской области и находившихся на активном диспансерном наблюдении в Московском отделении Российского центра муковисцидоза или проходивших лечение в отделении медицинской генетики Республиканской детской клинической больницы (РДКБ).

Также проведен анализ выписок из историй болезней 27 детей больных муковисцидозом различных регионов Российской Федерации, проходивших периодически лечение в отделении медицинской генетики РДКБ.

В динамике обследовано 84 ребенка больных муковисцидозом жителей г. Москвы и Московской области. 40 детей проходили лечение в отделении медицинской генетики РДКБ, 44 ребенка находились на активном диспансерном наблюдении и амбулаторном лечении в Московском отделении Российского центра муковисцидоза.

Исследование мокроты и мазков из зева проводили в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 от 22.04.1985. Идентификацию выделенных культур проводили стандартными методами, используя идентификационные тест-системы API 20 NE (Biomerieux), Enterotest, StaphyloTest, методы ПЦР идентификации и типирования *B.cepacia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Всего от 84 больных детей (амбулаторных и госпитализированных) было выделено более 350 культур микроорганизмов (*S.aureus*, *S.epidermidis*, *P.aeruginosa*, *P.alcaligenes*, *P.fluorescens*, *Enterococcus* spp., *Candida* spp., *Haemophilus* spp., *B.cepacia*, *S. maltophilia*, *K.oxytoca*, *N.subflava* и др.).

Чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом, используя агаризованную среду Мюллер-Хинтона, чувствительность к антимикробным препаратам *Naemophilus spp.* осуществляли, используя среду НТМ.

Результаты исследований подвергнуты статистической обработке.

Результаты

При анализе историй болезни 114 больных детей муковисцидозом, среди которых 21 ребенок был в возрасте до 1 года, 28 детей – 1-4 лет, 16 детей – 5-7 лет, 29 – 8-14 лет и 20 детей – 15-18 лет. У 75 (65,8%) удалось установить возраст детей, когда им был впервые установлен диагноз муковисцидоз (табл.1).

Из этих 75 больных 44 детям диагноз впервые был поставлен в возрасте до 1 года (58,7%), в 1-2 года – 9 детям (12,0%), в 3-4 года – 8 (10,7%), 5-7 лет – 8 (10,7%) и в 8-14 лет – 6 детям (8,0%).

При анализе данных микробиологических исследований установлено, что микроорганизмы были выделены у 13 из 21 ребенка в возрасте до 1 года (61,9%), у 26 из 28 детей в возрасте 1-4 года (92,9%), у 15 из 16 детей в возрасте 5-7 лет (93,8%), у всех детей в возрасте 8-14 лет и 15-18 лет (100%) (29 и 20 детей соответственно).

В группе детей до 1 года *S.aureus* был выделен у 6 детей (28,6%), а *Paeruginosa* – у 4-х детей (19%).

В группе детей в возрасте 1-4 года доминирующими микроорганизмами также были *S. aureus* и *P. aeruginosa*, которые выявлены у 13 (46,4%) и 10 детей (35,7%) соответственно.

У детей в возрасте 5 -7 лет *S. aureus* был обнаружен у 14 (87,5%), а *P. aeruginosa* у 5 (31,2%) из 16 детей.

В возрасте 8-14 лет *S.aureus* выявлен у 19 детей из 28 (67,8%) и *P.aeruginosa* – у 15 из 29 (51,7%).

И, наконец, в группе 15-18 лет начинает доминировать *P. aeruginosa*, выделенная у 12 детей из 20 (60%), а *S.aureus* – у 11 из 20 (55%).

Таким образом, можно заключить, что в возрасте до 1 года более чем у 1/3 больных детей муковисцидозом нижние дыхательные пути еще не обсеменены микроорганизмами, у детей в возрасте 1-4-х лет микроорганизмы обнаруживаются в 92,9% случаев, в возрасте 5-7 лет – в 93,8%, а в возрастных группах 8-14 лет и 15-18 лет – в 100% случаев.

При анализе микрофлоры установлено, что в группе детей до 1 года неоднократные высевы одного из видов возбудителя наблюдались только в двух образцах, взятых от 21 ребенка (9,5%).

Из 28 детей в возрасте 1-4 лет хроническая инфекция выявлена у 7 детей (25%). У 4-х детей (14,3%) диагностирована хроническая стафилококковая инфекция и у 3-х (10,7%) – синегнойная инфекция. При этом смешанная инфекция выявлена у 10 детей (35,7%). У детей со смешанной инфекцией в 7 случаях из 10 одним из представителей микрофлоры являлся *S.aureus* (70%), в 4-х случаях из 10 (30%) – грибы рода *Candida*, в 3-х случаях из 10 (30%) – *P.aeruginosa*. Были выявлены также *S.viridans*, *K.oxytosa*, представители сапрофитической

микрофлоры и неидентифицированной грам-отрицательной микрофлоры. В 2-х из 10 случаях в образцах выявлены представители микрофлоры 3-х видов – *S.aureus*+*P.aeruginosa*+*S.viridans* и *S.aureus*+*P.aeruginosa*+грибы рода *Candida*.

В группе детей 5-7 лет диагноз хронической инфекции был установлен у 8 из 16 детей (50%). При этом смешанная инфекция была выявлена у 6 из 16 детей (37,5%). У 5 из 6 детей она представляла сочетание *S.aureus* + *P.aeruginosa*, а у одного ребенка *S.aureus* + *H.influenzae*.

Среди детей 8-14 лет хроническая инфекция диагностирована у 19 из 29 детей (65,5%). У 10 детей постоянно выявляли *S.aureus* (34,5%), а у 9 – *P.aeruginosa* (31,0%). Смешанная инфекция выявлена у 7 из 29 детей (24,1%). В 6 случаях она представляла сочетание *P.aeruginosa* и *S.aureus* и в одном случае *B.cereacia* с представителями семейства *Enterobacteriaceae*.

В группе детей 15-18 лет хроническая инфекция диагностирована у 16 из 20 детей (80%). У 9 детей (45%) диагностирована хроническая синегнойная инфекция, у 5 (25%) – стафилококковая, у двух – смешанная, представлявшая сочетание *P.aeruginosa* + *S.aureus* и *S.aureus* + *B.cereacia*. Смешанная инфекция без диагноза «хроническая» была выявлена также еще у 3-х больных (15%). У этих больных были выявлены такие сочетания микроорганизмов – *P.aeruginosa* + *S.aureus* + *B.cereacia*, *S.aureus* + *B.cereacia* и *P.aeruginosa*+*S.aureus*+*E.coli*+стрептококк группы А.

Таким образом, при анализе микрофлоры больных детей муковисцидозом можно констатировать, что с увеличением возраста у больных формируются постоянные очаги хронической легочной инфекции, основными возбудителями которой являются *S.aureus* и *P.aeruginosa*.

В связи с тем, что изученная выборка из 114 детей больных муковисцидозом включала только жителей московского региона (66 детей – жители г.Москвы, 48 – Московской области) далее нами были проанализированы выписки из историй болезни 27 детей больных муковисцидозом различных регионов Российской Федерации, которые периодически проходили лечение в отделении медицинской генетики РДКБ. Среди детей данной выборки 5 детей были в возрасте 5-7 лет, 13 – в возрасте 8-14 лет и 11 – в возрасте 15-18 лет. При этом 8 детей госпитализировались в отделение 10-18 раз, 5 – 8-9 раз, 9 – 4-7 раз и только 5 – 1-3 раза.

В группы детей госпитализированных 8-9 и 10-18 раз входили дети двух возрастных групп 8-14 и 15-18 лет. Из 191 микробиологических обследований данных больных в период с 1998 г. по 2007 г. микроорганизмы были выделены в 190 случаях (99,5%) (табл.2).

Табл. 2. Микрофлора нижних дыхательных путей у 27 больных детей муковисцидозом.

д микроорганизма	Количество больных, у которых был обнаружен	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	83
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> мукоидный фенотип	20	69
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	69
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	24.1
Грибы рода <i>Candida</i>	6	20.7
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	13.8
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	10.3
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	3	10.3
<i>Ralstonia pickettii</i>	2	6.9
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	3.4
<i>Risobium radiobacter</i>	1	3.4
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1	3.4
Неидентифицированная грамотрицательная микрофлора	2	6.9
Неидентифицированная грамположительная микрофлора	1	3.4

В монокультуре микроорганизмы были выделены в 55 обследованиях (28,8%), а в ассоциации в 114 случаях (59,4%). Ассоциация из 2-х микроорганизмов разных видов выявлена в 54 случаях (28,3%), из 2-х микроорганизмов одного вида (*P.aeruginosa* мукоидного и немуконидного фенотипов) – в 14 случаях (7,3%). Ассоциация трех микроорганизмов 2-х видов (*S.aureus* и *P.aeruginosa* мукоидного и немуконидного фенотипов) в 25 случаях (13,1%), других видов микроорганизмов и *P.aeruginosa* мукоидного и немуконидного фенотипов – в 3-х случаях (1,6%). Ассоциация из трех-четырех микроорганизмов различных видов выявлена в 18 случаях (9,4%).

Таким образом, проведенный анализ двух выборок историй болезни детей больных муковисцидозом, проживающих в московском и других регионах Российской Федерации свидетельствует о том, что основными возбудителями легочных осложнений являются *P.aeruginosa* и *S. aureus*, а также представители грамотрицательных неферментирующих видов бактерий – *B.cepacia*, *S.maltophilia*, виды *Acinetobacter*. Анализ данных выборок также представляет убедительные доказательства, что в 60% случаев инфекционные осложнения у больных детей муковисцидозом вызываются ассоциациями микроорганизмов, представленные двумя и более видами бактерий. При этом в некоторых случаях (7,3%) ассоциация может состоять из представителей одного вида, представленными различными фенотипами (мукоидный и немуконидный фенотип).

Для более детального анализа микрофлоры у больных детей муковисцидозом было проведено динамическое обследование на протяжении 2-х лет 84 детей, из которых 40 детей проходили лечение в отделении медицинской генетики РДКБ (далее госпитализированные больные), а 44 – наблюдались амбулаторно в Московском центре муковисцидоза (далее амбулаторные больные).

При сравнении микробиологического пейзажа первично обследованных амбулаторных и госпитализированных детей установлено, что у амбулаторных больных наиболее часто выделяются *S.aureus* (79,5%), *P.aeruginosa* (41,0%), грибы рода *Candida* (35,9%), *S.epidermidis* (15,4%), *B.cereacia* (7,7%), виды *Enterococcus* (3,5%), *K.oxytosa* (2,4%). У госпитализированных больных значительно чаще выделялись бактерии вида *P.aeruginosa* (75,0%), реже *S.aureus* (45,0%), почти в 4 раза чаще *S.epidermidis* (57,5%) ($p<0.05$), в 7 раз чаще бактерии комплекса *B.cereacia* (55%) ($p<0.05$).

Доминирующим этиологическим агентом, который выделяли от госпитализированных больных были *P.aeruginosa*. Их обнаруживали в 75% случаев, что превышало аналогичный показатель у амбулаторных больных в 1.8 раза ($p<0.05$). У амбулаторных больных ведущим этиологическим агентом являлся *S.aureus*, превышая аналогичный показатель у госпитализированных больных в 1.7 раза ($p<0.05$). Обращает на себя внимание увеличение выделения почти в 4 раза микроорганизмов видов *S.epidermidis* и более чем в 7 раз *B.cereacia*.

Соотношение монокультур и микробных ассоциаций у госпитализированных и амбулаторных больных было практически одинаковым. У 32,5% госпитализированных больных и у 36,4% амбулаторных больных выделены монокультуры, а микробные ассоциации выявлены у 67,5% госпитализированных и 63,6% у амбулаторных больных.

У амбулаторных больных ассоциация из двух культур наблюдалась у 60,7% больных. У госпитализированных больных две культуры в составе были выделены у 40,7%. 3–5 культур высевали одновременно у 59,3% госпитализированных больных и у 39,3% амбулаторных больных.

При этом бактерии комплекса *B.cereacia* высевали от госпитализированных больных в 7 раз чаще, чем от амбулаторных больных, а в составе микробных ассоциаций данный микроорганизм был выделен в 27,3% случаев.

У амбулаторных больных микробные ассоциации, состоящие из 2-х культур, в 35,3% случаях представляли сочетание *P.aeruginosa* и *S.aureus*. У госпитализированных больных микробные ассоциации из 2-х культур представляли значительно большее разнообразие и включали следующие сочетания: *P.aeruginosa* + *S.aureus* – 18,2%, *P.aeruginosa*+*B.cereacia* – 9,1%, *P.aeruginosa*+*O.anthropi* – 9,1%, *P.aeruginosa* +*P.fluorescens* – 9,1%, *P.aeruginosa*+*Enterococcus* spp. – 9,1%, *B.cereacia*+грибы рода *Candida* – 9,1%, *S.epidermidis*+грибы рода *Candida* – 9,1%, *O.anthropi*+грибы рода *Candida* – 9,1% и, наконец, мукоидный фенотип *P.aeruginosa*+немучоидный фенотип *P.aeruginosa* – 9,1%.

В составе микробных ассоциаций, состоящих из 3-х микроорганизмов, выделенных от госпитализированных больных, *P.aeruginosa* выявлена в 54,5% случаев, *S.epidermidis* – в 45,4% случаев, *S.aureus* – в 36,4 % случаев, грибы рода *Candida* – в 36,4% случаев, *B.cereacia* – в 27,2% случаев и *S.maltophilia* и *O.anthropi* – в 9,1% случаев. В 18,2% случаев от больных в составе микробных ассоциаций выделяли одновременно мукоидный и немучоидный фенотип *P.aeruginosa*.

В попытке определить возможные источники инфицирования больных детей муковисцидозом в Московском центре муковисцидоза и в отделении медицинской генетики РДКБ были взяты образцы с процедурных столов, столов с инструментарием, стерильных лотков, рук медперсонала, внешней среды процедурных кабинетов. Из проведенных 25 анализов в Московском центре муковисцидоза 13 проб оказались стерильными. В 10 образцах выявлены бактерии вида *S.epidermidis* в количестве не превышавшем 300 КОЕ/тамп. и в 2-х образцах – *Enterococcus* spp. в количестве не превышавшем 300 КОЕ/тамп.

В 28 образцах, взятых из внешней среды отделения медицинской генетики РДКБ в 25% случаев выявлены *P.aeruginosa*, в 21,4% случаев – *S.epidermidis*, в 10,7% случаев – плесневые грибы, *O.anthropi*, *P.fluorescens*, в 7.1% случаев – *B.ceracia* и *S.maltophilia*.

Можно полагать, что внешняя среда, объекты процедурных кабинетов и руки медперсонала Московского центра муковисцидоза не являлись причиной инфицирования амбулаторных больных детей муковисцидозом, в то время как объекты внешней среды отделения медицинской генетики могли быть одним из возможных факторов формирования микрофлоры во время пребывания в стационаре.

Обсуждение

Из полученных в процессе анализа выписок из историй болезни 114 больных детей муковисцидозом жителей Московского региона, 27 больных детей муковисцидозом жителей различных регионов Российской Федерации и микробиологического мониторинга 84 амбулаторных и госпитализированных детей четко прослеживаются следующие закономерности: а) основными возбудителями инфекции легких у больных детей муковисцидозом являются *P.aeruginosa* и *S.aureus*, причем в первые годы жизни доминирует *S.aureus*, а затем основным возбудителем становится *P.aeruginosa*; б) хроническая синегнойная, стафилококковая или смешанная инфекция начинает диагностироваться у 25% детей уже в возрасте 1-4 года, а к 18 годам отмечается у 80% больных муковисцидозом; в) в 2/3 случаев инфицирование легких осуществляется не монокультурой, а ассоциацией микроорганизмов, причем у госпитализированных больных эти ассоциации в 60% случаев представлены более чем двумя микроорганизмами; г) в составе ассоциаций, кроме *P.aeruginosa*, часто встречаются другие представители грамотрицательных неферментирующих микроорганизмов – *B.ceracia*, *S.maltophilia*, *A.baumannii*, что, вероятно, обусловлено тропизмом этих видов микроорганизмов к легочной ткани [5].

Полученные нами данные при анализе историй болезни 114 детей больных муковисцидозом жителей московского региона, 27 детей больных муковисцидозом жителей различных регионов РФ и 84 амбулаторных и госпитализированных детей послужили основанием для заключения, что для больных муковисцидозом характерным проявлением инфекционных осложнений является смешанная инфекция и что *B.ceracia* является типичным представителем госпитальной микрофлоры. О видах микроорганизмов *P.aeruginosa*, *S.aureus* как основных возбудителей легочной инфекции у больных муковисцидозом имеется достаточное число публикаций, как и о роли *B.ceracia* в возникновении тяжелых инфекционных осложнений в 20% случаев, приводящих к возникновению «цепания синдрома» – легочной пневмонии и сепсису и летальному исходу, однако данных о том, что характерным проявлением инфекционных осложнений является смешанная инфекция ранее не представлялось. Нами установлено, что одной из часто встречающихся ассоциаций смешанной инфекции является сочетание *P.aeruginosa* и *B.ceracia*. В связи с этим М.Ю. Чернухой были проведены эксперименты по моделированию данного варианта смешанной инфекции *in vitro* и *in vivo* [2]. Было показано взаимное усиление гемолитической активности этих микроорганизмов *in vitro* и вирулентности *in vivo*, что может свидетельствовать о возможности взаимного использования компонентов регуляторной системы «Quorum sensing» в потенцировании их вирулентных свойств и способности формирования биопленки этими близкородственными бактериями. В клинике по свидетельству врачей, работающих в отделении медицинской генетики, такое сочетание возбудителей, как правило, подразумевает тяжелое клиническое течение инфекционного осложнения и неблагоприятный прогноз. В настоящее время нами проводятся исследования по изучению вирулентных свойств других часто встречающихся у больных муковисцидозом ассоциаций: 1) *P.aeruginosa*+*S.aureus*, 2) *P.aeruginosa*+*S.*

aureus+B.cereacia, P.aeruginosa+S.aureus+B.cereacia+ грибы рода Candida, P.aeruginosa+S.epidermidis+ B.cereacia. Штаммы, входящие в состав таких ассоциаций, проверяются на способность к формированию биопленок [6], на вирулентные свойства в моделях на экспериментальных животных, способность продуцировать определенные факторы патогенности.

Наиболее интересным для анализа является также материал, взятый от больных во время каждой из госпитализаций. Анализ микробиологических исследований показывает во многих случаях постоянство микрофлоры, причем это постоянство характерно не конкретно для какого-либо одного вида, но и для ряда видов, одновременно выделяемых от больных. Однако в ряде случаев в динамике исследования наблюдается периодическое отсутствие выделения одного какого-либо вида возбудителя. С чем это связано – с несовершенством микробиологической диагностики, элиминацией возбудителя при проведении специфического лечения химиотерапевтическими препаратами, переходом возбудителя в некультивируемое состояние с персистенцией возбудителя – следует исследовать, используя разнообразные методы молекулярной эпидемиологии и изучая штаммы, полученные в динамике от одного больного на протяжении ряда лет.

Определение причин выявления разных фенотипов, например, мукоидного и немуконидного вариантов P.aeruginosa в образцах, полученных от больного при однократном обследовании или изменения спектра антибиотикоустойчивости у возбудителя при последовательных выделениях также представляет значительный интерес для выяснения механизма формирования хронической легочной инфекции у больных муковисцидозом. В настоящее время установлено, что переход немуконидной формы P.aeruginosa в мукоидную является маркером хронической легочной инфекции. Данный переход объясняют генетической адаптацией бактериальной популяции к окружающей среде в воздушных путях больного муковисцидозом. Одна общая мутация в *mucA* гене обуславливает транзицию из немуконидного в мукоидный фенотип с суперпродукцией альгината. Мукоидный фенотип представляет особый интерес как индикатор хронической инфекции и, в связи с неблагоприятным прогнозом, разрушением и повреждениями легочной ткани. Раннее выявление инфекции и интенсивная антимикробная терапия являются необходимым условием предупреждения перехода из перемежающейся инфекции в хроническую.

Литература

1. Зубков М.Н., Самойленко В.А., Гугуцидзе Е.Н., Чучалин А.Г. Микробиологические аспекты этиологии и антимикробной терапии бронхолегочной инфекции при муковисцидозе у взрослых. Пульмонология, 2001, т.11, №3, с.38-41.
2. Чернуха М.Ю. «Реализация патогенности бактерий Burkholderia cepacia при разных формах инфекции» Автореферат докторской диссертации. М., 2008.
3. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности. Клин. микробиол. антимикроб.химиотер., 2005, 7, №3, с. 271-285.
4. Anthony M., B. Rose, M.B. Pegler et al. Genetic analysis of Pseudomonas aeruginosa isolates from the sputa of Australian adult cystic fibrosis patients. J.Clin. Microbiol. 2002; 40: 2772-2778.
5. Burns J.L., J.Emerson, J.R. Stapp et al. Microbiology of Sputum from patients at cystic fibrosis centers in United States. Clin. Infect.Dis., 1998; 27: 158-163.
6. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 167-193.
7. Frederiksen B., C. Koch, N. Hoiby Changing Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa infection in Danish cystic fibrosis patients (1974-1995) Pediatric pulmonology 1999; 28: 159-166.
8. FitzSimmons S.C. The changing epidemiology of cystic fibrosis. Curr Probl Pediatr, 1994, 24: 171-179.
9. Jelsbak L., H.K. Johansen, A.-L. Frost et al. Molecular epidemiology and dynamics of Pseudomonas aeruginosa populations in lungs of cystic fibrosis patients. Infect. Immun. 2007; 75: 2214-2224.
10. Jensen E.T., B. Giwercman, B. Ojeniyi et al. Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis and the possible role of contamination by dental equipment. J.Hosp. Inf. 1997; 36: 117-122.
11. Jones A.M., J.R. Govan, C.J. Doherty et al. Spread of a multiresistant strain of Pseudomonas aeruginosa isolates from patients with cystic fibrosis. Lancet 2001; 358: 557-558.
12. Mahenthiralingam E., M.T. Campbell, J. Foster et al. Random amplified polymorphic DNA typing of Pseudomonas aeruginosa isolates recovered from patients with cystic fibrosis. J.Clin. Microbiol., 1996; 34: 1129-1135.
13. McCallum S.J., M.J. Gallagher, J.E. Corkill et al. Spread of an epidemic Pseudomonas aeruginosa strain from a patient with cystic fibrosis (CF) to non-CF relatives. Thorax, 2002; 57: 559-560.
14. Saiman L., J. Siegel Infection control in cystic fibrosis. Clin.Microbiol. Rev., 2004; 17: 57-71.

Васильева Е.М., Соловьёва Ю.В., Баканов М.И., Симонова О.И.

НИИ педиатрии НЦЗД РАМН, Москва

Известно, что примерно каждый 25-й представитель европейской расы является носителем гена муковисцидоза (МВ). Мутации гена приводят к нарушению функции белка – трансмембранного регулятора муковисцидоза (МВТР), который является мембранным каналом для активного транспорта ионов хлора, а также регулятором абсорбции ионов натрия. Доказано, что 10% уровня нормального МВТР достаточно для защиты дыхательных путей от развития патологического процесса. В результате увеличения абсорбции натрия снижается и/или прекращается секреция жидкости, вырабатываемый в бронхах секрет обезвоживается и становится более густым и вязким [1]. Дефект секреции хлора влечёт за собой повышение вязкости слизи. Степень эластичности слизи и скорость её перемещения зависят от концентрации ионов Са и Mg [11].

Изменения со стороны бронхолёгочной системы при МВ выявляются уже при рождении или в первые недели жизни ребёнка. При МВ воспалительные процессы в лёгких проявляются уже в неонатальном периоде. Это было продемонстрировано у младенцев 4 недель и большей части детей с МВ до года – воспаление в отсутствие инфекции. В качестве начального стимула предполагают повышение уровня внутриклеточных протеаз и дефицит антипротеаз и возможность протеаз беспрепятственно вызывать повреждение бронхов и лёгких [20]. В течение первого года жизни или позднее, часто после вирусной инфекции, снижающей эффективность локальных механизмов противомикробной защиты, в нижние отделы респираторного тракта проникает большое количество различных патогенных микробов [7]. Эти нарушения провоцируют развитие бактериальной колонизации. И, одновременно, приводят к снижению активности защитных противомикробных систем на клеточном и молекулярном уровнях [1].

Бактериальные агенты запускают воспалительный процесс, характеризующийся массивной инфильтрацией нейтрофилами. Мобилизация нейтрофилов преимущественно в средние и мелкие отделы дыхательных путей представляет собой ключевой ответ макроорганизма на бактериальное вторжение. При гибели поли- и мононуклеарных фагоцитов высвобождается большое количество протеаз, оксидантов (свободные радикалы, миелопероксидаза), цитокинов, которые способствуют развитию «респираторного взрыва», разрушают эластин, фибронектин и другие структурные белки эпителия дыхательных путей, что способствует формированию бронхоэктазов [9]. Протеазы являются ферментами, обладающими способностью гидролизовать пептидные связи, и деградировать другие белки. Основным источником протеаз в лёгких являются воспалительные клетки, такие как нейтрофилы, тучные клетки, макрофаги и лимфоциты. Протеазы синтезируют и другие клетки, включая эндотелиальные, эпителиальные и фибробласты. Сериновые протеиназы, включая нейтрофильную эластазу (НЭ), катепсин G и протеиназу 3 упакованы в первичные гранулы в нейтрофилах. Нейтрофильные протеазы выделяются внутриклеточно в фаголизосомах или внеклеточно после активации клеток. Дифференциация моноцитов в макрофаги приводит к потере комплекта сериновых протеаз этих клеток. Однако, эта потеря замещается их способностью синтезировать другие протеазы, включая матриксные металлопротеиназы (ММП) и эластолитического катепсина. Антипротеазы ингибируют протеазы, взаимодействуя с их каталитическим центром, при этом защищают их от разрушения нормальной структуры. Основными ингибиторами протеолиза в лёгких являются α_1 -антитрипсин (α_1 -АТ), секреторный лейкопротеазный ингибитор (ЛПИ), элафин, тканевый ингибитор металлопротеиназ (ТИМП) и цистатины. В нормальных лёгких антипротеазы предупреждают вредное действие протеаз,

поскольку они присутствуют в более высоких концентрациях, чем протеазы. Но, если концентрация протеаз локально повышается, защита антипротеаз становится недостаточной, что наблюдается при хронических воспалительных болезнях лёгких. В результате этого повышается внеклеточная активность протеаз, ведущая к деградации лёгочной ткани. Протеазы не только разрушают клеточные белки, но и обладают биологической активностью, включая следующее: 1- при воспалении вовлекают рекрутируемые клетки, усиливают их миграцию; 2- инициируют иммунный ответ; 3- вовлекаются в бактериальный киллинг, апоптоз, фагоцитоз и продукцию муцина. Как же эти неструктивные процессы основных лёгочных протеаз разобщаются при заболеваниях лёгких? Сериновые протеазы, такие как НЭ, могут индуцировать выделение ИЛ-8 эпителиальными клетками бронхов и лейкотриена В₄ (ЛТВ₄) – макрофагами. НЭ, по-видимому, ответственна за повышенную экспрессию ИЛ-8 при муковисцидозе, т.к. ингибирование НЭ в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) при МВ почти полностью снимает выход ИЛ-8 из эпителия бронхов [14, 18].

Воздухоносные пути большинства пациентов с МВ хронически инфицированы патогенными микробами, особенно *Pseudomonas aeruginosa*. В результате этого в лёгких и бронхах больных с МВ накапливается большое количество нейтрофилов, приводя к эндобронхиальному воспалению, увеличению плотности мокроты и вовлечению в процесс адаптивных иммунных механизмов [14]. НЭ, катепсин G и протеиназа-3 являются возможными стимулами секреции слизи из субмукозальных желез и клеток эпителия [12].

Хроническая бронхолёгочная инфекция сопровождается высокими концентрациями противовоспалительных цитокинов, в том числе, интерлейкина-6, стимулирующего формирование остеокластов, а также интерлейкина 1 α и ФНО- α , стимулирующих резорбцию кости, что способствует снижению минеральной костной плотности. Снижение BMD выявлено у 53% – 62,5% с МВ. В большинстве случаев изменения соответствовали остеопении, реже – остеопорозу. Эти больные отличались более тяжёлым течением заболевания [3, 6, 10]. Вместе с тем, НЭ снижает цитотоксичность и продукцию цитокинов Т-клетками. Расщепляя CD14 на фибробластах и моноцитах, НЭ приводит к снижению чувствительности к липополисахаридам [14].

Хорошо известно, что бронхолёгочная патология сопровождается гипоксическими состояниями, вызывающими изменения в обменных процессах не только в легочной ткани, но и в клетках крови, прежде всего в эритроцитах. В нормально функционирующих клетках содержание продуктов свободно-радикального окисления находится на крайне низком уровне, несмотря на обилие субстратов ПОЛ. Именно состояние антиоксидантной системы определяет, насколько будут выражены патологические изменения, вызванные воздействием неспецифических факторов, активирующих окисление липидов. В то же время показано, что в больших дозах многие антиоксиданты токсичны и могут даже становиться прооксидантами. Установлено, что нарушение обмена (или усвояемости?) двухвалентных катионов является генетически детерминированным и может относиться к числу биологических дефектов, повышающих риск развития БА. Возможно, что изменения микроэлементного состава крови является одной из причин формирования вторичных иммунодефицитных состояний при заболеваниях органов дыхания [5].

В отечественной педиатрии отсутствуют комплексные исследования системы «протеолитический фермент эластаза/ антитела к ферменту/ ингибиторы эластазы/ ионы катализаторы» у детей при муковисцидозе. Удобной моделью для оценки состояния организма можно считать эритроцитарную мембрану. Известно,

что эритроциты играют существенную роль в патогенезе бронхиальной астмы, участвуя в процессах переноса кислорода и биологически активных веществ, в обеспечении реологии крови, в иммунных реакциях [8]. В задачи исследования входило: определить содержание/активность в плазме крови больных детей эластазы, матриксной металлопротеиназы-7 (ММП-7), антител к эластазе и катепсину G, ингибитора эластазы и катепсина G – α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ); выявить изменения уровня катионов – кальция, цинка, железа, меди, магния и аниона фосфата в плазме крови; исследовать изменения содержания свободных (не связанных с белками) магния, железа, цинка, меди, фосфора в эритроцитах больных детей.

Материалы и методы исследования.

Обследовались 60 больных с муковисцидозом, находившиеся на лечении в отделении пульмонологии и аллергологии НИИ педиатрии НЦЗД РАМН. Для выявления возрастных различий в изучаемых параметрах нами выделены две группы: I – дети младшего возраста от 2,5 месяцев до 5 лет ($n=34$) и II – старшего – от 11 до 18 лет ($n=21$). Нами исследовалось содержание ряда макро- и микроэлементов в цельной крови ионизированный кальций (Ca^{2+}), в плазме крови: Ca^{2+} («Микролит» фирмы «Konelab»), фосфор (Pi), магний (Mg), железо (Fe) в плазме и эритроцитах (Mg in, Fe in – по методу, разработанному в нашей лаборатории), уровень α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ) определяли на анализаторе Synchron CX 5Δ фирмы Becton Coulter, США. Медь (Cu), цинк (Zn) в плазме крови в эритроцитах (Cu in, Zn in) определяли наборами фирмы «Сентинел» (Италия) на спектрофотометре DU 530 фирмы «Бекман», спектрофотометрически исследовали содержание одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы, в качестве субстрата использовали Succinyl-(L-Ala)₃-4-nitroanilide, кроме того, определяли общий антиоксидантный статус (ОАС), активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) с помощью стандартных наборов фирмы Рандокс. В плазме крови, обогащённой нейтрофилами определяли активность и содержание нейтрофильной эластазы (НЭ) активности антиНЭ и анти-катепсина G (антиКатG). Содержание эластазы, ММП-7, активность антиКатG и антиНЭ исследовались методом иммуноферментного анализа с помощью стандартных наборов на иммуноферментном анализаторе фирмы Labsystems. В качестве возрастного контроля по ионам приводятся данные обследования более 700 детей, наблюдавшихся в НИИ педиатрии им. Г.Н.Сперанского в течение последних 7 лет, параметры принимались за «нормальные», если укладывались в интервал $M \pm 1,645$ сгмы. Из выборки были исключены дети с тяжёлой наследственной и/или хронической патологией. Группу сравнения (ГС) составили 30 детей без признаков хронической бронхолегочной патологии средний возраст $11 \pm 1,6$ года, проходившие плановое диспансерное обследование.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием персонального компьютера программа Statistica. Различия между группами считали статистически значимыми при вероятности прогноза ($p < 0,05$). Коэффициент корреляции определяли по Пирсону.

Результаты исследований и обсуждение.

Как видно из таблицы, у больных с МВ с возрастом снижается уровень ионизированного кальция в цельной крови и плазме, однако значения данного показателя остаются в пределах возрастных норм. Каких либо изменений в содержании в плазме крови общего кальция, магния, цинка и железа не выявлено. У больных I группы отмечено некоторое снижение уровня Cu по сравнению с контролем ($11,6 \pm 0,13$ мкМ/л 0–6,5 лет $p < 0,01$; $10,5 \pm 0,1$ мкМ/л 10–18 лет). Снижение содержания фосфора во II группе было ожидаемым – с возрастом уровень данного иона снижается, что не слишком желательно для больных МВ, так как может свидетельствовать об энергетической недостаточности организма.

Возрастные изменения

изучаемых биохимических показателей у больных с муковисцидозом

Показатель \ Группа	I - 4 мес -5,5 лет (n=34)	II - 11-18 лет (n=21)	p<
Возраст	2,73±0,26	13,7±0,46	p<0,001
Ca ²⁺ крови	1,255±0,009	1,204±0,007	p<0,001
Ca ²⁺ плазмы	1,200±0,01	1,162±0,01	p<0,05
Ca общий	2,64±0,03	2,6±0,04	
Mg мМ/л	0,99±0,01	0,94±0,03	
Mg in мМ/10 ¹² эритро	0,429±0,18	0,364±0,016	p<0,05
Pi	1,71±0,04	1,35±0,06	p<0,001
Fe мМ/л	14,5±1,17	13,5±1,85	
Fe in мМ/10 ¹² эритро	61,6±3,14	47,4±3,0	p<0,01
Cu мМ/л	10,6±0,29	10,4±0,5	
Cu in мМ/10 ¹² эритро	5,11±0,31	4,56±0,3	
Zn мМ/л	21,4±0,34	20,7±0,26	
Zn in мМ/10 ¹² эритро	26,9±1,19	27,1±1,1	
СОД ед/мл	805,7±130,0	639,9±72,0	
ГП ед/г Нв	18,1±2,9	12,6±2,43	
ОАС мМ/л	1,166±0,065	1,188±0,09	
НЭ ед/мл	82,1±11,5	83,6±14,4	
НЭ нг/мд	204,3±29,7	459,1±120,0	p=0,05
антиНЭ ед/мл	448,2±36,7	649,0±137,0	
ММР-7 нг/мл	6,38±0,42	8,87±1,41	
антиКатG ед/мл	414,4±32,2	519,2±38,5	p<0,05
α ₁ -АТ мг/дл	165,5±6,82	168,1±12,1	
МДА мМ/10 ¹² эритро	36,3±2,6	24,1±3,4	p<0,01

У больных I группы выявлено повышение содержания Mg in по сравнению с контролем (0,380±0,066 мМ/10¹² эритро. p<0,05) и с больными II группы (p<0,05). Уровень Mg in во II группе был несколько выше, чем в контроле (0,338±0,004 мМ/10¹² эритро), но разница не была статистически значимой. Известно, что Mg блокирует потенциал- и агонист-зависимые Ca каналы, снижая выделение Ca из внутриклеточных депо, активирует Ca-АТФазу, аденилатциклазу, приводя к повышению уровня цАМФ и расслаблению гладких мышц бронхов [5].

У больных I группы содержание в эритроцитах Cu in, Zn in и особенно Fe in было выше, чем в контроле (4,39±0,1 (p<0,05), 24,8±0,58 и 50,6±0,96 (p<0,001) мМ/10¹² эритро соответственно). Повышение уровня Fe in может быть результатом воспаления, которое приводит к выделению гемоглобина в лёгкие. Показано, что НЭ, доминирующая протеаза при МВ, способна расщеплять Нв и in vivo, как выявлено в БАЛ при МВ. Выделение Нв при МВ стимулируется IL-8 и IL-10 в эпителиальных клетках. В этот процесс вовлекаются мерпин, рецептор эпидермального фактора роста (EGF) и MgD-88. При МВ уровень мерпина в клетках и бронхиальных ворсинках повышается. α₁-АТ способен связывать гем и нейтрализовать выделение IL-8 из клеток BL410 при МВ [13]. Кроме того, установлено, что катепсины способны быстро инактивировать лактоферрин – основной железо-связывающий белок воздухоносных путей (возможно, что при этом увеличивается свободное Fe). Это очень важно при МВ, т.к. лактоферрин – единственный природный белок, способный ингибировать образование биофильма *Pseudomonas* [18]. Установлено, что во время астматической атаки количество •ОН ионов может удваиваться или ещё больше увеличиваться. Одновременно увеличивается выделение свободных ионов железа и меди из мест запаса, что приводит к повышенной продукции свободных радикалов и соответственно повышает риск атаки БА [19]. С возрастом содержание Fe in при МВ значительно снижалось, оставаясь несколько выше, чем в контроле (43,2±0,29 мМ/10¹² эритро).

Отмечено ещё большее повышение с возрастом уровня Zn in, однако разница по сравнению с контролем ($25,0 \pm 0,15$ in мкМ/ 10^{12} эритро) не была статистически значимой. Наши данные расходятся с результатами, полученными Krebs N., с соавторами, (2000) относительно низкой концентрации Zn, определявшейся примерно у 30% грудных детей с МВ, диагностированным при скрининге новорождённых. Авторы предположили, что снижение уровня данного иона может быть характерно для всех больных МВ. Правда, это заключение было сделано в исследованиях по дополнительной нагрузке грудных детей Zn. Правда, это заключение было сделано в исследованиях по дополнительной нагрузке грудных детей Zn [16]. Вместе с тем, в работе Urushidate S. с соавторами (2010) при исследовании содержания в сыворотке крови следовых элементов (Mn, Cu, Zn, Se, Fe) показано, что у женщин, страдающих бронхиальной астмой, уровень цинка был значительно выше, чем у здоровых и мужчин с БА [19].

Активность СОД у больных I группы не отличалась от таковой ГС ($835 \pm 106,0$ ед/мл), а активность ГП была на 35% выше, чем в ГС ($13,4 \pm 0,88$ ед/г Hb). С возрастом активность ГП и СОД при МВ снижалась, как и количество МДА в эритроцитах, последнее снижение было статистически значимым. Однако, уровень МДА в эритроцитах больных МВ был значительно выше, чем в ГС ($19,1 \pm 2,71$ мкМ/ 10^{12} эритро. $p < 0,001$) Очень незначительно увеличивался общий антиоксидантный статус, оставаясь значительно ниже, чем в ГС ($1,598 \pm 0,131$ мМ/л, $p < 0,05$). Показано, что у больных МВ отмечается дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами, причины которого различны. С одной стороны, вследствие дисфункции желудочно-кишечного тракта в организм больного поступает недостаточное количество таких важных антиоксидантов, как витамин Е и каротиноиды; с другой стороны, хронический воспалительный процесс инфекционной этиологии в респираторной системе приводит к стимуляции синтеза макрофагами свободных радикалов, которые обладают повреждающим действием. Хроническая гипоксия также влияет на циркуляцию свободных радикалов в сыворотке крови. Концентрация антиоксидантов в сыворотке крови и клетках тканей с возрастом у больных МВ снижается и коррелирует с тяжестью заболевания [4]. Вместе с тем, синглетный кислород и перекись водорода, образующиеся в результате частичной инактивации активных форм кислорода СОД, могут взаимодействовать в присутствии свободного железа с образованием высокореактивного ($\cdot\text{OH}$) радикала, O_2^- может вступать в реакцию с NO с продукцией пероксинитрита, который также генерирует $\cdot\text{OH}$. Окислительный стресс (ОС) ведёт к окислению арахидоновой кислоты и образованию новой серии простагландинных медиаторов – изопростанов, которые усиливают бронхоконстрикцию и экссудацию. В нейтрофилах H_2O_2 метаболизируется миелопероксидазой в присутствии ионов хлора в гипохлорную кислоту, являющуюся сильным оксидантом. В лёгких внутриклеточная антиоксидантная система экспрессируется в небольших количествах и не индуцируется ОС, основные антиоксиданты функционируют внеклеточно. Глутатионовая система является центральным антиоксидантным механизмом в воздухоносных путях (ВП). При ОС снижается функциональная способность антипротеаз – $\alpha_1\text{-PI}$ и SLPI при этом ускоряется расщепление эластина в лёгочной паренхиме [12]. Показано, что Cu,Zn-СОД опосредуемое выделение H_2O_2 альвеолярными макрофагами приводит к развитию фиброза лёгких. Образование H_2O_2 , опосредованное Cu,Zn-СОД, ингибируется при отсутствии железо-серных белков. Мыши, дефицитные по Cu,Zn-СОД генерировали значительно меньшие количества H_2O_2 и имели меньший окислительный стресс в БАЛ и лёгочной паренхиме. Кроме того, СОД $-/-$ мыши не развивали фиброз лёгких и у них отсутствовало перераспределение коллагена I типа в фибробластах лёгких [15].

Активность нейтрофильной эластазы (НЭ) у больных с МВ была значительно выше, чем в ГС ($45,4 \pm 7,31$ ед/мл $p < 0,05$), не выявлено никаких возрастных изменений данного параметра. Известно, что НЭ может деградировать различные компоненты экстрацеллюлярного матрикса, такие как эластин, коллаген, протеогликаны, фибронектин и другие белки, вызывая при этом деструкцию лёгочной ткани.

В довершение НЭ способна инактивировать антипротеазный ТИМР и элафин. При МВ наблюдается длительная (пролонгированная) эндобронхиальная протеазная активность (РЕРА), которая вызывает повреждение различных структурных, клеточных и растворимых компонентов лёгких, в результате чего наблюдается патогенная колонизация лёгких и бронхов. НЭ разрушает иммуноглобулины, приводя к их фрагментации и уменьшая фагоцитоз и киллинг. Полагают, что НЭ является потенциальным активатором про-ферментов и индуктором генной экспрессии MMP-2 и катепсина. Повышенная продукция MMP-2 может приводить к разрушению и инаktivации ключевых иммунных белков, таких как β -дефензин и лактоферрин. Основными клеточными мишенями для РЕРА являются: а) – фагоцитоз апоптотических нейтрофилов, что приводит к повышению продукции TGF- β , который, в свою очередь, увеличивает продукцию провоспалительных цитокинов нейтрофилами; б) – альвеолярные макрофаги, удаляющие апоптотические нейтрофилы из респираторного тракта через фосфатидилсериновые рецепторы, при этом облегчается распространение воспалительного процесса. Вместе с тем доказано, что НЭ необходима для антимикробной деятельности. Ингибирование активности сериновых протеаз повышало прогрессирование туберкулёза, особенно при сниженной продукции NO. Полагают, что активация сериновых протеаз является протективным механизмом и может представлять потенциально новую стратегию для лечения туберкулёза [17]. Больные МВ должны быть отнесены к группе риска по заболеваемости туберкулёзом. Из 37 наблюдаемых больных трое (14, 15, 17 лет) заболели активной формой туберкулёза, в двух случаях обусловленного мультирезистентными микобактериями. Клиническая картина МВ и туберкулёза, как известно, сходна [2].

Интересно отметить, что с возрастом при МВ значительно увеличивалось содержание НЭ, более, чем в 2 раза по сравнению с I группой и в 3,6 раза по отношению к данным ГС ($127,5 \pm 13,5$ нг/мл, $p < 0,01$). Возможно, это связано с необходимостью для организма больного повышать активность НЭ, постоянно снижаемую применением антибиотиков и макролидов [12]. Установлено, что у больных МВ нарушен клиренс апоптотических клеток (АКл). Уровень АКл у больных с МВ и бронхоэктазами был значительно увеличен по сравнению с больными с другой бронхолёгочной патологией. Показано, что БАЛ МВ больных содержал НЭ и катепсина G в несколько раз меньше, чем больных с бронхоэктазами. Кроме того, макрофаги больных МВ поглощали мало АКл [20]. Возможно, что мутации, провоцирующие МВ, затрагивают и НЭ, приводя к продукции изофермента с изменёнными свойствами.

Активность антиНЭ во II группе повышалась, но из-за значительного разброса данных, вызванного индивидуальными особенностями больных, тяжестью заболевания, это повышение не было статистически значимым. Активность антиНЭ у больных была выше, чем в ГС ($331,4 \pm 18,0$ ед/мл, $p_I < 0,01$, $p_{II} < 0,05$). Активность антиКатG у больных изменялась также, как и антиНЭ, но эти изменения были менее выраженными. Активность антиКатG, как и анти НЭ, у больных МВ была значительно выше, чем в ГС ($264,0 \pm 49,9$ ед/мл, $p_I < 0,05$, $p_{II} < 0,05$). Не выявлено изменений в содержании основного ингибитора НЭ – α_1 -АТ, уровень данного вещества при МВ не отличался от такового ГС ($161,5 \pm 4,1$ мг/дл), что согласуется с данными Griese M. (с соавт. 2008), не обнаружившими никаких изменений в уровне антипротеаз при МВ [14].

MMP-7 является одной из немногих необходимых организму матриксных металлопротеиназ, т.к. синтезируется в обычных условиях у здоровых людей, с рождения. Уровень MMP-7 при МВ значительно повышен, чего не отмечалось нами у других больных с бронхолёгочной патологией. У больных I группы содержание матриксина (MMP-7) повышено по сравнению с ГС в 2 раза ($3,05 \pm 0,15$ нг/мл, $p < 0,001$), у больных II группы содержание MMP-7 повышено почти в 3 раза ($p < 0,01$). Многие исследователи сходятся во мнении, что MMPs необходимо

рассматривать не просто как протеиназы для матриксного катализа, но как внеклеточные ферменты, критически вовлекаемые в клеточно-клеточный и клеточно-матриксный сигнал. Wilson et al (1999) показали, что эпителиальная MMP-7 индуцирует активацию защиты, это явилось первым доказательством того, что MMPs опосредованно вовлекаются в антимикробную активность [21].

Таким образом, в лёгких идентифицированы три основных класса протеаз – сериновые, цистениновые и матриксные металлопротеиназы. Однако каждое семейство протеаз имеет множественные регуляторные функции, которые делают их основой в воспалении, инициации иммунитета и инфекции. При хронических воспалительных заболеваниях лёгких эти процессы становятся нерегулируемыми из-за избыточной внеклеточной протеазной активности, которая в итоге ведёт к чрезмерному накоплению провоспалительных медиаторов, повышенному фагоцитозу, увеличению продукции муцина и инаktivации важных природных и антимикробных белков. Однако остаётся неясной причина длительного повышения протеолитической активности. При МВ это может быть связано с генетическими мутациями в иммунных и неиммунных клетках, вызывающими повышенное образование или выделение протеаз. При МВ представлены нейтрофилы воспалительного фенотипа, секретирующие больше оксидантов и НЭ, чем нейтрофилы больных с бронхоэктазами, но без МВ, и чем контрольные субъекты. Полагают, что Z-вариант α_1 -АТ, который пролимеризуется, может действовать как хемоаттрактант для нейтрофилов и провоцировать избыточность НЭ [18]. На основании наших исследований мы предполагаем, что MMP-7 может быть дополнительным маркёром при диагностике муковисцидоза и повышенный уровень MMP-7 отражает тяжесть состояния больного ребёнка.

Библиография

1. Амелина Е.Л., Самсонова М.В.: Муковисцидоз /В кн. Респираторная медицина п/ред.Чучалина А.Г.М. «Геотар-Медиа», 2007с.693-713
2. АшEROва И.К., Тараканова В.В., Ганичева Н.П., Смирнова Л.В., Выборнова С.В., Выборнов А.В., Усачова О.В./15-летний опыт работы центра муковисцидоза в Ярославле. Муковисцидоз у детей и взрослых Ярославль.- 2007:с.28-35,
3. АшEROва И.К., Ершова О.Б: Снижение минеральной костной плотности у больных муковисцидозом./ Муковисцидоз у детей и взрослых Ярославль.-2007; с.36-40
4. Волков И.К.:Антиоксидантная терапия у больных муковисцидозом.
5. Муковисцидоз у детей и взрослых Ярославль.-2007:с.49-50,
6. Емельянов А.В., Шевелёв С.Э., Долгодворов А.Ф.Обмен макро и микро-элементов В кн. Мех-мы воспаления бронхов и лёгких и противовосп.тер. СПб, Нордмед-издат, 1998 с.508-523
7. 6. Капустина Т.Ю., Федорова В.С., Воронкова А.Ю., Передерко Л.В., Казберюк Н.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Снижение минеральной плотности костной ткани у пациентов с муковисцидозом: частота, факторы риска, подходы к ткрапии Муковисцидоз у детей и взрослых, Ярославль 2007; с.73-74
8. Капранов Н.И.Муковисцидоз – национальная приоритетная программа в Российской Федерации_Муковисцидоз у детей и взрослых, Ярославль 2007с.3-7,
9. Лизенко М.В., Петровский В.И., Ретеранд Т.И., Бахирев А.М., Давыдов С.А.Нарушение структурных липидов в патогенезе бронхиальной астмы. Пульмонология 2004; № 4 с.47-52

10. Пухальский А.Л. с соавт. Пульмонология 2006, приложение по муковисцидозу с.81-84,
11. Симанова Т.И.Остеопения и метаболизм костной ткани при муковисцидозе, Актуальные проблемы педиатрии, 2008 М. с.308
12. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Романова Л.К.:Мукоцилиарный клиренс/В кн. Респираторная медицина М., «ГЕОТАР-МЕДИА, п/ред.А.Г.Чучалина 2007; т.1, с.165-174
13. Barnes P.J., Shapiro S.D., Pauwels R.A.Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms Eur Respir J;2003; v 22: pp.672-688
14. Cosgrove S., Chrotimall S.H., Green C.M., McElvaney N.G.: Pulmonary proteases in the Cystic Fibrosis lung induced interleukin 8 expression from bronchial epithelial cells via a heme/merpin/epidermal growth factor receptor/toll-like receptor pathway/ j Biol Chem; 2011, v 286 (9), 7692-7704
15. Griese M., Kappler M., Gaggar A., Hartl D. Inhibition of airway proteases in cystic fibrosis lung disease Eur.Respir.J. 2008, v.32, p. 783-795
16. He C., Murthy S., McCormic M.L., Spitz D., Ryan A.J., Carter A.B.: Mitochondrial Cu,Zn-Superoxide dismutase mediates pulmonary fibrosis by augmenting H₂O₂ generation/j Biol Chem 2011; v 286 (17), 15597-15607
17. Krebs N., Westcott J., Arnold T., Kluger B.,Accurso F., Miller L., Hambidge K.M. Abnormalities in Zinc Homeostasis in Young Infants with Cystic Fibrosis
18. Pediatric Research v 48 (2), pp 256-261
2000
19. Reece ST., Loddenkemper Ch., Askew DJ., Zdler U., Schommer-Leiter S., Stein M., Mir FA., Dorhoi A., Mollenkopf H-J., Silverman GA., Kaufmann SH-E.: Serine protease activity contributes to control of *Mycobacterium tuberculosis* in hypoxic lung granulomas in mice/ J Clin Invest. 2010; 120 (9):3365-3376
20. Taggart C.C., Greene C.M., Carroll T.P., O'Neill S.J., McElvaney N.G.:Elastolytic proteases. Inflammation resolution and dysregulation in chronic infective lung disease Am. j Respir Crit Care Med 2005 171:1070-1076
21. Urushidate S., Matsuzaka M., Okubo N., Iwasaki H., Hasebe T., Tsuya R., Iwane K., Inoue R., Yaamai K., Danjo K., Takahashi I., Umeda T., Ando S., Itai K., Nakaji S.Assotiation between concentration of trace elements in serum and bronchial astma among Japanese general population J. of Trace Elements in Medicine and Biology;2010 v.24, p.236-24
22. Vandivier R.W., Fadok V.A., Hoffmann P.R., Bratton D.L., Penvari Ch., Brown K.K., Brain J.D., Accurso F.J., Henson P.M.: Elastase-mediated phosphatidylserine receptor cleavage impairs apoptotic cell clearance in cystic fibrosis and brochiectasis, J.Clinical Invest. 2002;109(5):661-670
23. Wilson C, Ouellette A., Satchell D. Et al. Regulation of intestinal α -defensin activation by the metalloproteinase matrilysin in innate host defense// Science 1999;286;113-117

Ушакова С.Г.¹, дмн Симонова О.И.², Белавина П.И.², кмн Карнеева О.В.², Лукина О.Ф.²

¹ ГУЗ «Тульская детская областная клиническая больница», г. Тула

² Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

В настоящее время муковисцидоз (МВ) остается одним из самых тяжелых наследственных хронических полиорганных заболеваний, которое приводит к стойкой инвалидизации ребенка практически с рождения [1]. В патогенезе МВ ведущая роль принадлежит изменениям в дыхательной системе, в первую очередь – в нижних ее отделах. При этом врачи часто фокусируют свое внимание на базисной терапии патологических изменений нижних дыхательных путей, не уделяя должного внимания терапии заболеваний ЛОР-органов у детей с МВ [2]. С точки зрения экзокринной дисфункции при МВ, носовые ходы и придаточные пазухи носа особенно уязвимы [3]. Предполагается, что вязкий секрет подавляет мукоцилиарный клиренс, способствует застою слизи, проникновению инфекции в околоносовые пазухи и препятствует нормальной циркуляции воздуха в них. Создается своего рода порочный круг (рис. 1).



Naumann HH, HNO 26(12):397, 1978

Рис.1 Порочный круг этиопатогенеза риносинусита

Хроническое воспаление в околоносовых пазухах часто приводит к образованию в них полипозной ткани и развитию хронических полипозных синуситов. Типичными симптомами хронического воспалительного процесса в полости носа и околоносовых пазухах являются заложенность носа, затруднение или отсутствие носового дыхания, головная боль, выделения из носовых ходов, в том числе гнойные. Наличие хронического риносинусита значительно утяжеляет течение основного заболевания и приводит к снижению показателей легочной функции, возрастанию колонизации синегнойной палочки с ее хроническим носительством

[4]. По данным некоторых авторов, эффективная санация верхних дыхательных путей и придаточных пазух носа уменьшает колонизацию патогенной флорой бронхолегочной системы [4]. Медикаментозное лечение полипоза системными и топическими кортикостероидами, антигистаминными препаратами и деконгестантами при МВ, как правило, недостаточно эффективно. Чаще используется оперативный метод лечения, но и он приводит лишь к временному улучшению [5]. Более того, по мнению некоторых авторов, хирургическое лечение заболеваний верхних дыхательных путей при МВ нежелательно. Оперативное лечение заболеваний носа, околоносовых пазух, лимфаденоидного кольца глотки при МВ – это «терапия отчаяния» [6]. Одной из важных составляющих комплексного лечения детей с МВ наряду с различными видами базисной терапии является муколитическая терапия [7]. Дорназа альфа – рекомбинантная человеческая дезоксирибонуклеаза (ДНАза) – гидролизует ДНК ядер распадающихся нейтрофилов – субстрата, во многом определяющего патологическую вязкость мокроты при МВ [8]. Дорназа альфа значительно снижает вязкость мокроты, ее способность к адгезии и улучшает мукоцилиарный транспорт. Особо нужно отметить, что помимо муколитического действия, дорназа альфа обладает еще двумя важными свойствами: противовоспалительным и антибактериальным [7]. При применении дорназы альфа происходит снижение уровня нейтрофильной эластазы и интерлейкина (ИЛ) 8 в мокроте, а также числа нейтрофилов, уровня нейтрофильной эластазы и ИЛ 8 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа. Кроме того, дорназа альфа препятствует формированию мукоидной формы *Pseudomonas aeruginosa*, снижает частоту высева бактериальных культур, особенно *Staphylococcus aureus* [8].

Хронический синусит может сформироваться вследствие ряда заболеваний или аномалий развития. Все предрасполагающие факторы имеют одну общую характерную черту: нарушение проходимости в области носовой полости между средними носовыми раковинами и латеральной носовой стенкой, в которую открываются фронтальные, этмоидальные и максиллярные синусы [9]. Для лечения детей с риносинуситами различной этиологии (аллергических, вирусных, бактериальных) в 2005 г. был предложен метод аппликации лекарственного средства с помощью пульсирующей подачи аэрозоля, при этом аэрозоль удается доставить непосредственно в придаточные пазухи носа [9]. Для этого используется специально разработанный прибор – ПАРИ ЛЦ СИНУС. В работе прибора сочетается одновременно пульсирующая и постоянная подача аэрозоля. Ингаляции проводятся через нос с помощью специальной насадки, при этом другая половина носа перекрывается с помощью окклюдора. Дополнительная пульсирующая подача аэрозоля создает меняющееся давление в полости носа, что обеспечивает лучшее проникновение аэрозоля в придаточные пазухи носа [10].

Ингаляции с помощью ПАРИ ЛЦ СИНУС проводятся в среднем 5–8 мин и могут повторяться до 3 раз в день [9]. Методика таких ингаляций описана при риносинуситах различной этиологии: при остром и аллергическом рините [11]. Об успешном применении дорназы альфа при хроническом риносинусите у 5 больных МВ впервые сообщил в 2008 г. J. G. Mainz [12].

В Научном центре здоровья детей (НЦЗД) РАМН на базе отделения пульмонологии и аллергологии проводилось лечение 28 детей в возрасте 4–18 лет (15 девочек, 13 мальчиков) с диагнозом: «Муковисцидоз, легочно-кишечная форма. Хронический риносинусит». В качестве муколитического средства использовалась дорназа альфа (Пульмозим, Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария), которая является одним из основных компонентов базисной терапии больных МВ. Препарат вводили с помощью компрессорного ингалятора ПАРИ ЛЦ СИНУС. У 8 наблюдаемых детей были выявлены полипозные разрастания в одной или обеих носовых пазухах, у 4

– девиация носовой перегородки. Для большего эффекта ингаляционной терапии всем детям проводился туалет носа (до, а при необходимости – и после ингаляции) с помощью назального душа, что помогало освободить полость носа от слизи и восстановить проходимость носовых ходов. Курс ингаляций включал 7–14 процедур по 2–4 мин (в зависимости от возраста) в каждую ноздрю 1 раз в день. Повторные курсы (через 3 мес) проведены 7 детям; трое детей выполняли курс ингаляций дома.

Важным для обеспечения эффективности ингаляции является перекрытие нижних дыхательных путей посредством мягкого неба (рис 2).



Рис.2 Методика проведения ингаляции с помощью ПАРИ ЛЦ СИНУС

Для этого во время процедуры свободная от ингаляции ноздря перекрывается окклюдором; выдох осуществляется через нос либо рот. При выдохе через рот пациент сопровождают его словами «ку-ку», «ко-ко», «пароход». Ориентиром правильности проведения ингаляции является появление ощущения похолодания в области ингалируемой пазухи через некоторое время от начала ингаляции.

Все дети с МВ находились на базисной терапии (панкреатические ферменты, урсодезоксихолевая кислота, поливитамины), а также ингаляционно получали дорназу альфа в нижние дыхательные пути по стандартной схеме. Таким образом, ингаляции дорназы альфа применялись дважды в день: отдельно для лечения верхних и нижних дыхательных путей. Критериями эффективности лечения служили объективные данные: сатурация, сахариновый тест, риноманометрия, эндоскопическая картина носовых пазух, данные осмотра ЛОР-врача. В качестве субъективных критериев эффективности рассматривались: время появления препарата непосредственно в пазухе носа (ощущение похолодания), улучшение

носового дыхания, отмечаемое ребенком непосредственно после проведения процедуры и в конце курса ингаляций, а также облегчение отхождения вязкого секрета из носовых пазух.

В дыхательных путях человека существуют механизмы защиты от различных патогенных и условно-патогенных агентов, находящихся в воздухе. Одним из важнейших механизмов защиты является мукоцилиарный транспорт — однонаправленное (к глотке) перемещение инородных частиц вместе со слоем слизи в результате колебательных движений ресничек. Известно, что при воспалительных процессах в верхних дыхательных путях (в частности, при хроническом воспалении у больных МВ) нарушения мукоцилиарного транспорта становятся одной из первых и главных причин их возникновения; в основном они связаны с изменением (замедлением) двигательной активности ресничек. Главным показателем состояния транспортной системы мерцательного эпителия является скорость мукоцилиарного транспорта [13]. Наиболее приемлем для клинических исследований метод определения мукоцилиарного клиренса при помощи сахаринового теста (кристалл сахараина апплицируют на средней трети поверхности слизистой оболочки носового хода и определяют время появления первых ощущений сладкого вкуса в ротовой полости). У здоровых людей время мукоцилиарного клиренса по сахарinovому тесту составляет 24 ± 7 мин [15]. По данным Н. Г. Горовенко, у больных МВ на фоне грубых нарушений мукоцилиарного клиренса с развитием мукоцилиарной недостаточности II-III степени время сахаринового теста увеличивается в 2 раза (до 58 ± 19 мин) [16].

Полученные нами до и после курса процедур результаты объективно демонстрируют эффективность метода. В частности, было отмечено повышение сатурации O_2 с 94,1 до 97,2%, снижение времени мукоцилиарного клиренса (по данным сахаринового теста) — с 20,8 до 7,3 мин, увеличение суммарного воздушного потока (по данным риноманометрии) — с 401 ± 21 мл/с (что составляло в среднем 71,8% от нормы) до 529 ± 30 мл/с (94,6% от нормы). Отмечено достоверное уменьшение времени появления препарата в придаточных пазухах носа в течение курса проводимых процедур как с правой, так и с левой стороны (по данным времени появления чувства похолодания в области ингалируемой пазухи) (рис. 3, 4).

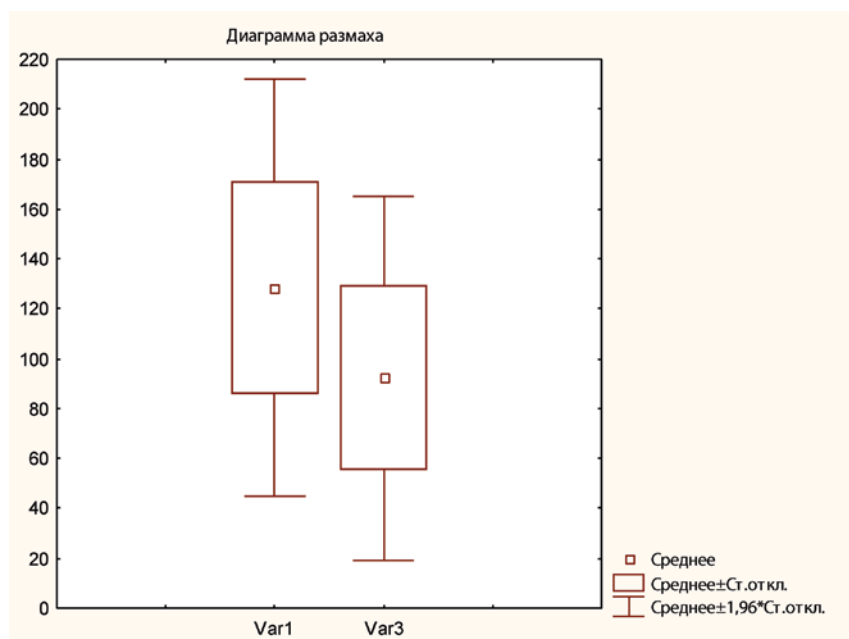


Рис 3. Уменьшение времени появления препарата в правой пазухе.

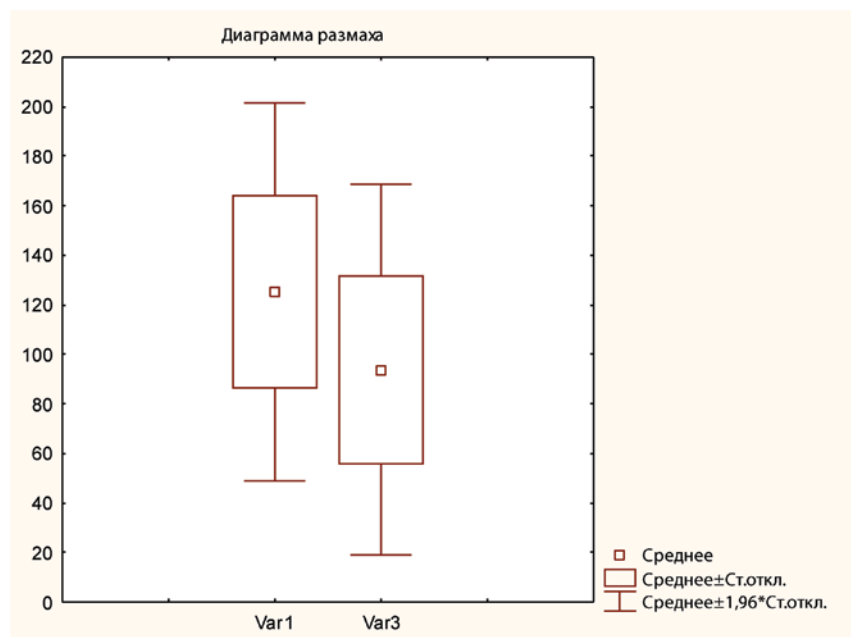


Рис 4. Уменьшение времени появления препарата в левой пазухе

ЛОР-врачом у 4 пациентов была отмечена выраженная положительная динамика, проявлявшаяся сокращением полипозных разрастаний («возвращение» их в полость носовой пазухи) (рис. 5, 6) .



Рис 5. Эндоскопическая картина полипозного разрастания до лечения



Рис.6 Эндоскопическая картина полипозного разрастания после ингаляций дорназы альфа через ПАРИ ЛЦ СИНУС

У всех детей уменьшился отек слизистой оболочки носовых ходов; у 12 — существенно уменьшилось количество слизисто-гнойного отделяемого в просвете носовых ходов; у 13 — уменьшился отек слизистой носовых ходов. Незначительная положительная динамика эндоскопической картины отмечена у 4 обследованных. Субъективно исчезновение чувства затрудненного носового дыхания отмечали 17 детей, нормализацию дыхания во сне — 12, значительное уменьшение (вплоть до исчезновения) количества гнойного отделяемого из носа во время утреннего туалета — все больные.

Важно отметить, что у всех детей улучшилось носовое дыхание уже после 2-й процедуры. Отказа от проведения процедур не было.

Таким образом, применение данной методики в терапии хронического синусита является эффективным методом консервативной терапии у детей с МВ. Эта методика может быть рекомендована к применению с лечебной, а также с профилактической целью. Особой ценностью данного вида терапии является возможность использования ее в домашних условиях.

Список литературы:

1. Капранов Н. И., Каширская Н. Ю. Муковисцидоз: Современные достижения и актуальные проблемы / Методические рекомендации. – М., 2005. – 104 с.
2. Mainz J. G., Koitchev A. Management of chronic rhinosinusitis in cystic fibrosis // J. Cystic. Fibrosis. – 2009; 8: 10-14.
3. Grant W. E. The upper airway in cystic fibrosis // J. Cystic. Fibrosis. – 2008: 19-21.
4. Holzmann D., Speich R., Kaufmann T. et al. Effects of sinus surgery in patients with cystic fibrosis after lung transplantation: a 10-year experience // Transplantation. – 2004; 77 (1): 134-136.
5. Богомильский М. Р., Сагателян М. О. Оториноларингологические аспекты муковисцидоза // Вестник оториноларингологии. – 2007; 1: 53-56.
6. Гаджимирзаев Г. А. Поражение ЛОР-органов при наследственной патологии // Новости оториноларингологии и логопатологии. – 1995; 1 (2): 61-64.
7. Симонова О. И. Дорназа альфа: от чего зависит эффективность препарата // Вопросы современной педиатрии. – 2009; 8 (4): 130-135.
8. Симонова О.И. Дорназа альфа: три клинических эффекта // Педиатрическая фармакология. – 2008; 5 (2): 26-32.
9. Геппе Н. А. Ингаляционная небулайзерная терапия заболеваний респираторной системы у детей. Практическое руководство для врачей. – М.: Колор Ит Студио, 2000. – 84 с.
10. Schuschung U., Moeller W., Meyer G. et al. Visualization of human sinus ventilation by radioactive krypton using the PARI SINUS TM Pulsating System // J. Cystic. Fibrosis. – 2007; 6 (Suppl. 1): 13.
11. Геппе Н. А., Малявина У. С., Дронов И. А., Титова Е. Л. Новая технология в лечении риносинуситов у детей // Доктор.ру. – 2010; 1 (52): 7-10.
12. Mainz J. G., Mentzel H. J., Schneider G. et al. Sinu-nasal inhalation of dornase alfa in CF. Results of a double-blind placebocontrolled pilot trial // J. Cystic. Fibrosis. – 2008; 7: 27.
13. Эммануэль В. Л. Трахеобронхиальное содержимое и новые возможности его лабораторного исследования // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997; 12: 25-41.
14. Кобылянский В. И., Окунева Е. Ю. Коррекция мукоцилиарной недостаточности: возможности и перспективы // Терапевтический архив. – 2006; 3: 74-84. 3 (16): 27-31.
15. Горовенко Н.Г. Принципы антибактериальной терапии *Pseudomonas aeruginosa* у больных муковисцидозом // Украинский химиотерапевтический журнал. – 1999; 3: 3-7.

Немцева С.Ю., Лукина О.Ф., Иванов А.П., Реутова В.С., Симонова О.И.

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

В последнее время появляются новые лекарственные средства и методы лечения муковисцидоза (МВ), что существенно улучшает прогноз течения заболевания и качество жизни больных. Важной частью комплексного подхода к лечению и реабилитации таких больных является адекватный, индивидуально подобранный уровень физической нагрузки и спортивной активности. В ряде исследований [1,2,3] был показан благоприятный эффект от выполнения комплексов упражнений детьми и взрослыми с муковисцидозом. Повышение физической активности приводило к увеличению переносимости физической нагрузки, стабилизации или даже улучшению функции лёгких и качества жизни этих больных. По данным Lysinger J. (2007) адекватная физическая активность у детей с муковисцидозом улучшает качество жизни, даже когда кардиореспираторный ответ на нагрузку отличается от нормального.

Использование тестов с дозированной физической нагрузкой играет важную роль для индивидуально подбора необходимого уровня физической активности, оценки уровня физической подготовленности, определения эффективности проводимых лечебных и реабилитационных мероприятий, оценки степени риска возникновения осложнений имеющегося патологического процесса. Физическая нагрузка позволяет обнаружить скрытые нарушения функции кардиореспираторной системы, которые невозможно выявить при обычных, статических исследованиях [4]. Определение физической работоспособности у детей с МВ является важным тестом при отборе кандидатов на трансплантацию лёгких [5]. Таким образом, комплексная оценка кардиореспираторного ответа на дозированную физическую нагрузку является важным инструментом оценки состояния больных с муковисцидозом.

Целью исследования было оценить переносимость дозированной физической нагрузки и её влияние на кардио-респираторную систему у детей с муковисцидозом.

Объект и методы исследования

Исследование проведено у 13 больных муковисцидозом детей в возрасте от 7 до 17 лет (мальчиков-8, девочек-5): со среднетяжелым (9) и с тяжелым (4) течением заболевания вне обострения. Группа сравнения состояла из 15 детей (мальчики-9, девочки-6) без сердечно-легочных заболеваний, по возрасту, росту и весу сопоставимая с основной группой. При отборе детей на нагрузочное тестирование учитывались стандартные противопоказания и величина $ОФВ_1$ (не менее 60 % от должного значения).

Нагрузочное тестирование на велоэргометре с определением общей физической работоспособности проводилось с использованием непрерывного ступенчато-возрастающего протокола с расчетом мощности нагрузки в зависимости от массы тела (начальная мощность нагрузки составила 0,5 Вт/кг с приростом по 0,5 Вт/кг на каждой ступени). Критерием прекращения нагрузки при хорошем самочувствии пациента и отсутствии жалоб являлось достижение пульса 160–170 ударов в минуту. В ходе нагрузки контролировались ЧСС, частота дыхания, артериальное давление, насыщение крови кислородом (пульсоксиметрия), ЭКГ в 12 отведениях. До нагрузки, на ее максимуме и в конце 5 минуты релаксации

методом доплерэхокардиографии определялись показатели гемодинамики: ударный объем левого желудочка, минутный объем кровообращения. До и после нагрузки исследовались показатели ФВД, а также оценивались кислотно-основное состояние и газы крови в артериализированной крови из мочки уха.

Результаты

Максимально выполненная мощность нагрузки является одним из основных показателей общей физической работоспособности (ОФР). Динамика изменения ЧСС и частоты дыхания (ЧД) в ходе нагрузки отражает адаптивные возможности кардио-респираторной системы (таблица 1).

Таблица 1. Показатели мощности выполненной нагрузки, динамика ЧСС и ЧД ($M \pm SD$).

	Группа сравнения (n=15)	Дети с МВ (n=13)
Мощность нагрузки, Вт/кг	2,12 $\pm$ 0,29	2,02 $\pm$ 0,4
ЧСС в покое, уд/мин	91,3 $\pm$ 6,8	93,1 $\pm$ 8,7
ЧСС на пике нагрузки, уд/мин	172,0 $\pm$ 2,5	166,8 $\pm$ 4,8*
ЧД в покое в мин	19,7 $\pm$ 2,7	20,5 $\pm$ 2,8
ЧД на пике нагрузки в мин	32,8 $\pm$ 5,3	40,7 $\pm$ 6,7**

Примечание: * – достоверность различий ЧСС на пике нагрузки ($p=0,01$)

** – достоверность различий ЧД на пике нагрузки ($p=0,01$)

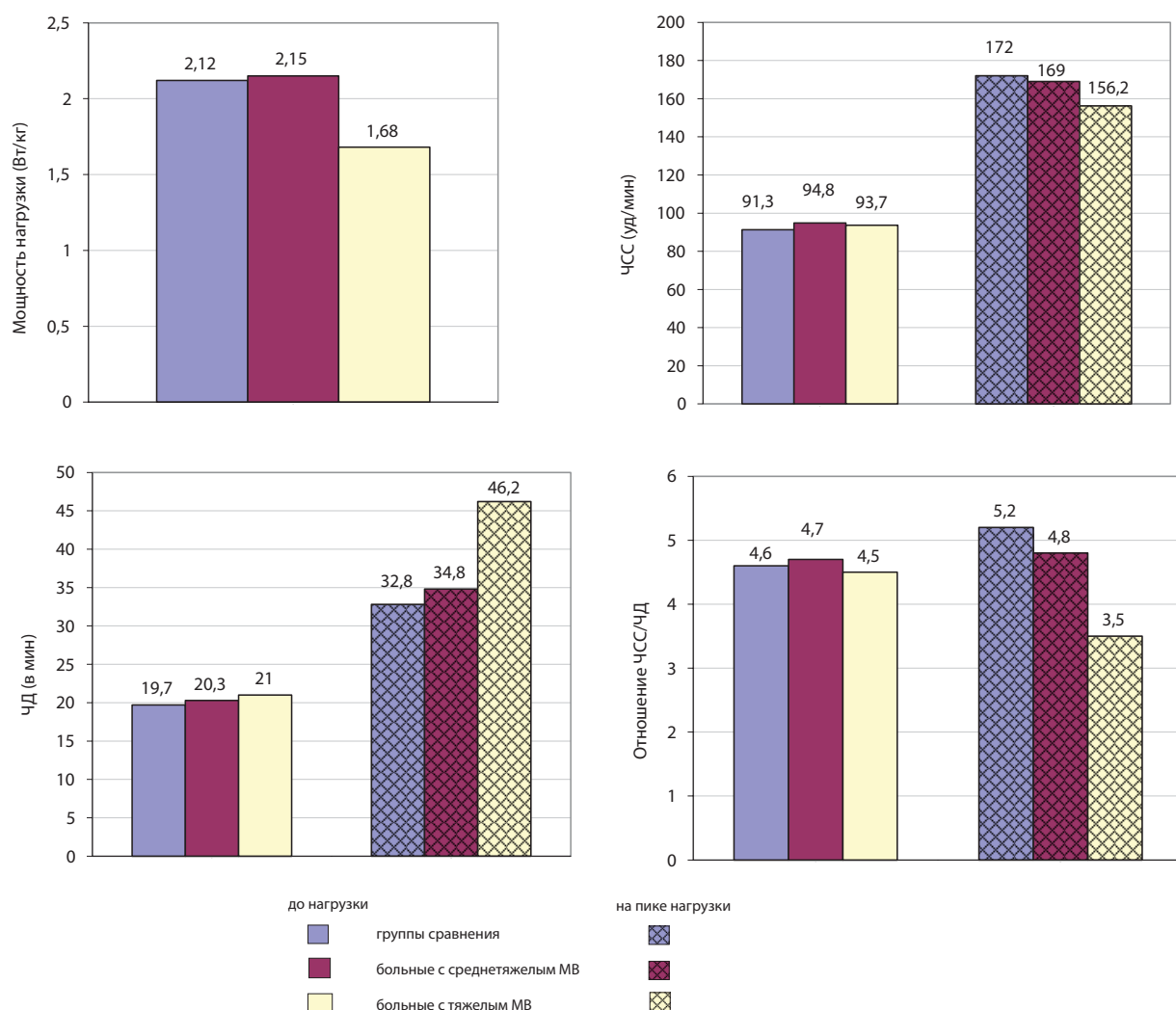
Как видно из таблицы, больные дети характеризовались несколько меньшей мощностью выполненной нагрузки и, соответственно, снижением достигнутой на пике нагрузки ЧСС, большим приростом частоты дыхания. Эти данные согласуются с результатами исследований, показавших, что одним из ведущих лимитирующих физическую работоспособность факторов у детей с хроническими заболеваниями легких, является снижение эффективности и экономичности вентиляции легких [6,8].

При индивидуальном анализе показателей у детей с муковисцидозом были выявлены различия в зависимости от тяжести течения болезни (рис. 1). Исходные показатели ЧСС и частоты дыхания как при тяжелом, так и при среднетяжелом течении МВ не отличались от результатов в группе сравнения, отношение ЧД/ЧСС составляло в группах от 1:4,5 до 1:4,7.

Больные со среднетяжелым течением заболевания выполнили нагрузку той же мощности, что и дети в группе сравнения. При этом у большинства детей (7 из 9) нагрузка вызвала адекватный прирост ЧСС и ЧД, максимальные значения которых сопоставимы с показателями в группе сравнения. У детей из группы сравнения отношение ЧД/ЧСС в ходе нагрузки оставалось не менее 1:4 на каждой ступени, что является нормой для состояния покоя и, вероятно, может рассматриваться как адекватный прирост ЧД на каждую ступень нагрузки. Это же отношение ЧД/ЧСС на каждой ступени нагрузки наблюдалось у большинства больных (8 детей) со среднетяжелым течением заболевания. Субъективно переносимость нагрузки у всех больных этой группы была хорошей: 5 детей не предъявляло никаких жалоб в ходе исследования, у 4 отмечалась умеренная усталость ног в конце нагрузки. Таким образом, переносимость нагрузки большинством больных со среднетяжелым течением заболевания была не хуже, чем у детей из группы сравнения.

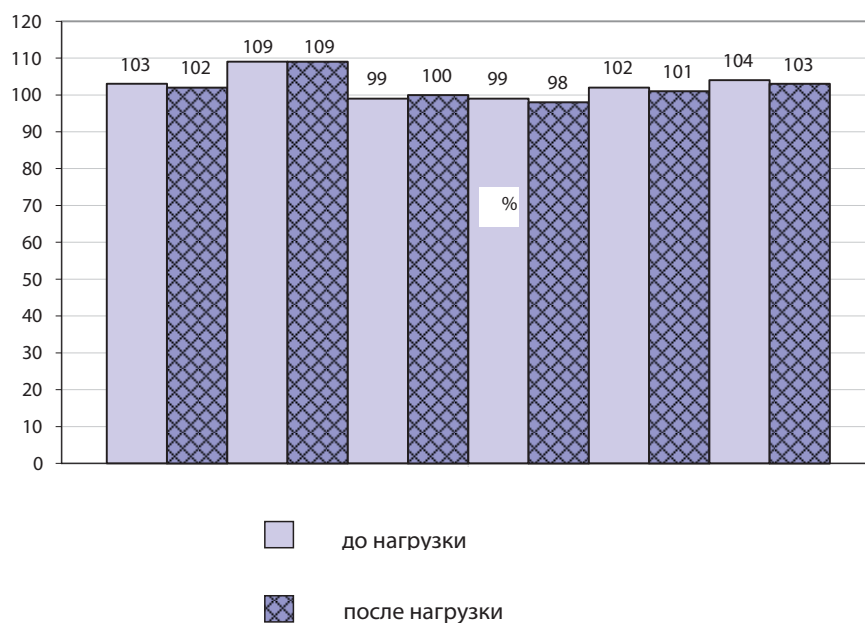
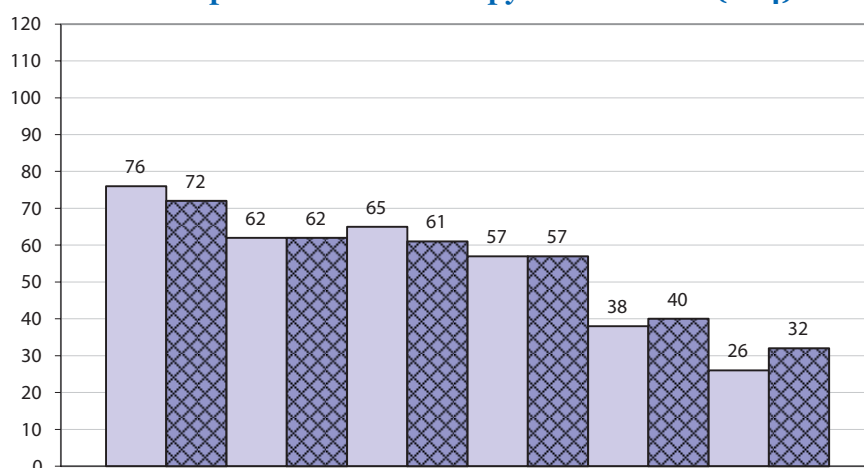
Мощность нагрузки и динамика ЧСС и ЧД

Рисунок 1



Однако у двух пациентов из данной группы при хорошей субъективной переносимости и отсутствии жалоб отмечалось нарушение адаптации к физической нагрузке. У одного ребенка нагрузка вызвала быстрый прирост ЧСС до 170 уд/мин и сопровождалась снижением работоспособности до 1,6 Вт/кг. Вероятно, это связано с общей детренированностью организма (при этом ЧД на максимуме составила 36/мин, отношение ЧД/ЧСС 1:4,7). В другом наблюдении при нагрузке мощностью 3 Вт/кг с ЧСС до 170 были зарегистрированы признаки перегрузки в виде неадекватного учащения дыхания до 46/мин на последней ступени с отношением ЧД/ЧСС=1:3,7 и снижением сатурации крови до 87% (никаких неприятных ощущений ребенок при этом не испытывал). Предыдущая ступень нагрузки в 2,5 Вт/кг у этого пациента характеризовалась адекватной реакцией ЧСС и ЧД (155 уд/мин и 36/мин соответственно с отношением ЧД/ЧСС 1:4,3). Эти примеры иллюстрируют ограничение адаптационных возможностей кардиореспираторной системы у некоторых больных со среднетяжелым течением МВ.

У больных с тяжелым течением муковисцидоза отмечалось снижение работоспособности до $1,68 \pm 0,3$ Вт/кг, при этом наблюдался быстрый прирост ЧСС и выраженное учащение дыхания с отношением ЧД/ЧСС 1:3,5 на 2-3 ступенях нагрузки, что в двух случаях привело к снижению сатурации крови до 86-87%. Субъективно дети предъявляли жалобы на общую усталость, а у двоих появилось ощущение нехватки воздуха. Нагрузка была прекращена при ЧСС от 145 до 160 уд/мин. Эти данные свидетельствуют о выраженном снижении компенсаторных возможностей кардиореспираторной системы у больных с тяжелым течением МВ.

Больные с нормальной ФВД (n=9)**Рисунок 2****Больные с генерализованными нарушениями БП (n=4)**

Известно, что у больных с хроническими воспалительными заболеваниями легких физическая нагрузка может ухудшить показатели бронхиальной проходимости и спровоцировать развитие постнагрузочного бронхоспазма. У всех больных со среднетяжелым течением МВ регистрировались нормальные исходные показатели ФВД, у больных с тяжелым течением имелись умеренно выраженные генерализованные нарушения бронхиальной проходимости. Выполненная больными нагрузка не вызвала достоверных изменений показателей ФВД в обеих группах (**рис.2**). На отсутствие достоверных изменений показателей внешнего дыхания у детей с МВ даже при интенсивных физических нагрузках указывает Р.Н.С.Klijn [3].

Газовый состав крови и ее кислотно-основное состояние также отражают компенсаторные возможности как здорового, так и больного организма в покое и при физической нагрузке. При недостаточности компенсаторных механизмов регуляции газового состава крови при болезнях легких развиваются артериальная гипоксемия, гиперкапния, изменение рН крови. Известно, что у детей с МВ наблюдается значительное увеличение неравномерности легочной вентиляции и вентиляционно-перфузионных соотношений, у части больных отмечается снижение диффузионной способности легких. В ряде исследований [6,7,9] было выявлено, что физическая нагрузка у этих больных, повышая альвеолярной вентиляции и легочный кровоток, приводит к увеличению площади альвеолярно-капиллярного газообмена и улучшает оксигенацию крови (увеличивается напряжение кислорода в артериальной крови).

Оценка газов крови и КОС была проведена у 10 больных с МВ и 9 детей из группы сравнения. В группе сравнения исходные показатели были в пределах возрастной нормы. Среди больных МВ у 6 пациентов со среднетяжелым течением заболевания напряжение кислорода в крови (PaO₂) было в норме (87,5±6,5 мм рт. ст.), а у 4 больных (2 с тяжелым и 2 со среднетяжелым течением) имелась исходная артериальная гипоксемия (PaO₂ от 63,6 до 78,1 мм рт. ст.). Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Динамика газов крови в ответ на физическую нагрузку (M±SD).

	Группа сравнения (n=9)	Больные без исходной гипоксемии (n=6)	Больные с исходной гипоксემией (n=4)
PaO ₂ исходно (мм рт.ст.)	90,3±4,3	87,5±6,5	70,6±7,7
PaCO ₂ исходно (мм рт.ст.)	32,1±2,4	33,2±2,7	34,3±3,0
HbO ₂ исходно (в %)	94,6±0,74	94,7±0,7	92,5±1,1
Hb исходно (г/дл)	14,6±1,3	12,7±1,7	15,0±1,4
PaO ₂ после нагрузки (мм рт.ст.)	99,1±8,5*	98,5±8,3*	77,4±5,0*
PaCO ₂ после нагрузки (мм рт.ст.)	31,3±3,6	29,7±3,7**	28,5±1,0**
HbO ₂ после нагрузки (в %)	94,9±0,49	94,5±0,9	91,9±1,5
Hb после нагрузки (г/дл)	14,4±1,0	13,8±1,1	13,2±1,2

Примечание: * – достоверность различий PaO₂ до и после нагрузки (p < 0,05)

** – достоверность различий PaCO₂ до и после нагрузки (p<0,05)

Как видно из таблицы 2, у больных без исходной гипоксемии показатели газов крови до нагрузки достоверно не отличались от показателей в группе сравнения. У больных с гипоксემией отмечалось только достоверное снижение PaO₂.

В ответ на нагрузку во всех группах отмечалось достоверное увеличение PaO₂, кроме того у больных в обеих группах наблюдается некоторое уменьшение PaCO₂ по сравнению с исходным (у 3 больных была исходная гиперкапния). При этом у больных с исходной гипоксემией физическая нагрузка хоть и вызвала прирост PaO₂, однако у 3 из 4 детей гипоксемия сохранилась и после нагрузки, что, видимо, связано со снижением эффективности вентиляции и недостаточностью компенсаторных механизмов у этих больных. Насыщение крови кислородом, а также содержание в крови гемоглобина в ответ на нагрузку во всех группах существенно не менялись.

В ответ на нагрузку у всех детей появлялись признаки метаболического ацидоза, что является закономерным следствием активной мышечной работы и связано с накоплением в работающих мышцах молочной кислоты с последующим увеличением ее концентрации в крови. При этом в группе сравнения у всех детей нагрузка вызвала только увеличение дефицита оснований (среднее значение АВЕ увеличилось с -0,25 до -4,6; p=0,001) при сохранившихся нормальных значениях pH крови (т.е. развился компенсированный метаболический ацидоз). Среди больных МВ у половины детей исходно наблюдался компенсированный метаболический ацидоз (pH крови 7,42±0,02 мм рт.ст, АВЕ от -3,2 до -4,7). Нагрузка вызвала усугубление метаболического ацидоза (среднее значение АВЕ увеличилось с -1,75 до -7,47), что у двоих больных привело к снижению pH крови.

Известно, что у здоровых детей основным лимитирующим физическую работоспособность фактором является функциональная возможность сердечно-сосудистой системы поддерживать адекватный нагрузке сердечный выброс.

По данным литературы [10,11,12] у детей сердечный выброс в ответ на нагрузку увеличивается в 2-5 раз в зависимости от ее мощности и функциональных резервов организма. При этом прирост ударного объема обычно не превышает 30-40 % и наблюдается при работе малой и средней интенсивности при ЧСС 130-140 уд/мин. Дальнейшее увеличение нагрузки приводит к прогрессивному уменьшению ударного объема, поддержание адекватного минутного объема кровообращения происходит за счет прироста ЧСС. В работе Савельева В.П., Ширяевой И.С. [6] при анализе реакции гемодинамики на нагрузку в 1 Вт/кг у детей с хроническими заболеваниями легких в покое выявлена некоторая тенденция к увеличению ударного объема и сердечного выброса, экономичность работы сердца (кислородный пульс) не отличалась от здоровых детей. При нагрузке отмечался несколько меньший по сравнению с должным прирост сердечного выброса, остальные показатели оставались в пределах должных величин.

При оценке ЭКГ в ходе нагрузки как у детей из группы сравнения, так и у больных МВ нарушений ритма сердца, а также признаков ишемии миокарда зарегистрировано не было, что согласуется с данными Р.Н.С.Klijn [3].

При регистрации артериального давления у детей с муковисцидозом выявлен нормотонический тип реакции АД [10]. При этом максимальные значения систолического артериального давления (САД) не превышали 155 мм рт.ст., диастолическое давление (ДАД) не поднималось выше 90 мм рт.ст. Восстановление артериального давления до исходного у большинства больных, как и у детей из группы сравнения, происходило в пределах 5-7 минут после окончания нагрузки. Только у одного ребенка с тяжелым течением болезни на 5-ой минуте восстановительного периода наблюдалось снижение САД на 15 мм рт.ст. по сравнению с исходным.

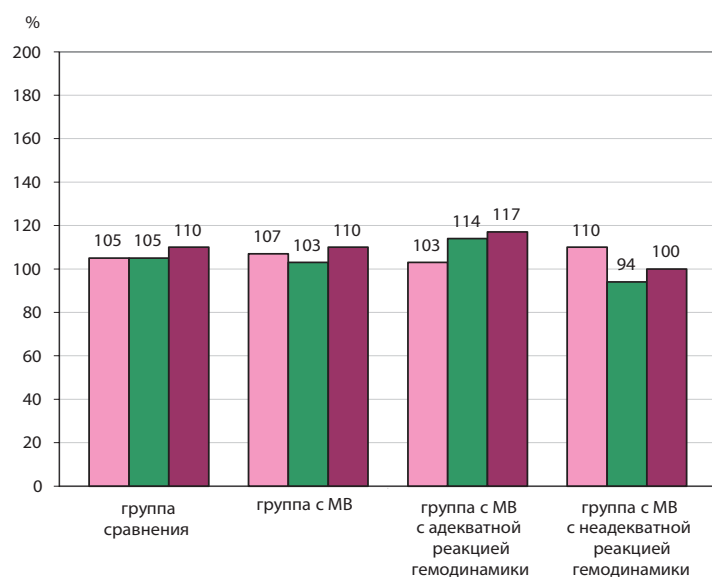
Ответ гемодинамики на нагрузку у детей из группы сравнения состоял в увеличении минутного объема кровообращения (МОК) на 62 % по сравнению с исходным за счет прироста ЧСС на 85 %. При этом на высоте нагрузки при ЧСС 165-170 уд/мин отмечалось некоторое уменьшение ударного объема (УО) левого желудочка (на 12 %). Восстановление параметров гемодинамики (в пределах 5% и 10% к исходным значениям для ЧСС, УО и МОК соответственно) происходило в течение 5 минут.

В отличие от группы сравнения дети с МВ имели несколько меньшие исходные средние значения ударного и минутного объема. Реакция гемодинамики на нагрузку у больных характеризовалась той же направленностью изменения показателей, что и в группе сравнения, однако выраженность гемодинамических сдвигов была больше. Так, на максимуме нагрузки при увеличении ЧСС на 79% зарегистрировано уменьшение УО на 32% от исходного, что сопровождалось увеличением МОК всего на 23%. Восстановление показателей гемодинамики у больных характеризовалось некоторым замедлением восстановления ЧСС и МОК (значения которых к концу 5 мин реституции составляли 107% и 110% исходных соответственно) (рис. 3).

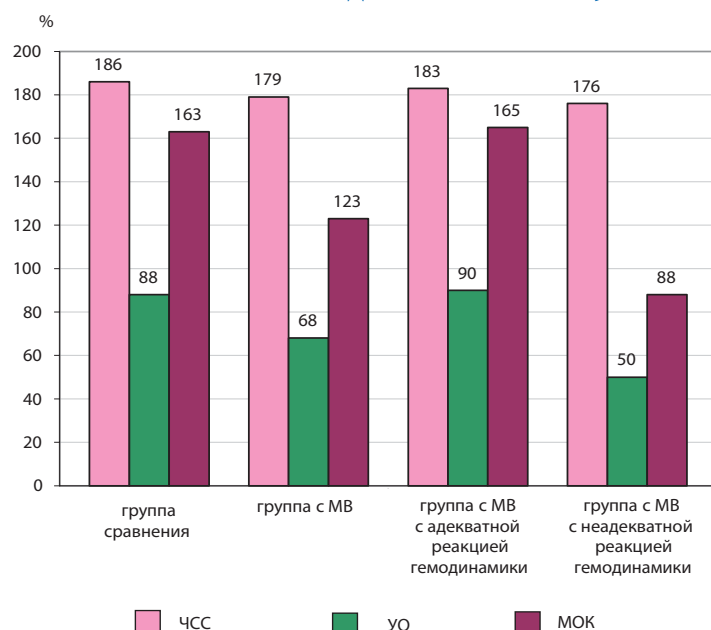
При индивидуальной оценке реакции гемодинамики на нагрузку выявлено, что у 6 (46%) детей с МВ изменения ЧСС, УО и МОК на пике нагрузки не отличались от значений этих показателей в группе сравнения. Восстановление параметров происходило в пределах 5 минут у большинства этих больных. Данная реакция гемодинамики на нагрузку расценена нами как адекватная. У остальных 7 (54%) больных нагрузка до ЧСС 160-170 уд/мин вызвала выраженное уменьшение УО (на 50%), что сопровождалось отсутствием увеличения МОК. Восстановление гемодинамики у 4 из 7 больных было замедленным. Данная реакция оценена как неадекватная и свидетельствует о дезадаптации гемодинамического ответа на данный уровень нагрузки. По-видимому, выраженное уменьшение УО у этих больных связано с функционально значимым укорочением диастолы на пике нагрузки при 160-170 уд/мин.

**Показатели ЧСС, УО, МОК на максимуме нагрузки
(в % по отношению к исходным значениям)**

Рисунок 3



**Показатели ЧСС, УО, МОК в конце 5-й минуты реституции
(в % по отношению к исходным значениям)**



Нам не удалось выявить достоверно значимых связей между различной реакцией гемодинамики на нагрузку и тяжестью течения МВ или исходным состоянием гемодинамики у этих больных. Так, среди детей с адекватной реакцией гемодинамики 2 были с тяжелым и 4 со среднетяжелым течением заболевания. Мощность выполненной нагрузки была различна (от 1,5 до 2,5 Вт/кг), максимальная ЧСС при этом составила 160–176 уд/мин. Среди детей с неадекватной реакцией у 2 было тяжелое и у 5 среднетяжелое течение муковисцидоза. Мощность выполненной нагрузки у 6 составила 2,0–3,0 Вт/кг, что несколько больше, чем у больных с адекватной реакцией.

Таким образом, у половины (7 из 13) больных с МВ нагрузка до ЧСС 160–170 уд/мин вызвала неблагоприятные гемодинамические сдвиги, что свидетельствует о сниженных адаптационных возможностях сердечно-сосудистой системы у этих больных.

Суммируя полученные нами данные, можно сделать вывод, что дети с МВ переносят субмаксимальную физическую нагрузку хуже, чем дети из группы сравнения. Степень дезадаптации ответа кардиореспираторной системы на нагрузку зависит от тяжести течения болезни. Для больных со среднетяжелым

течением МВ при отсутствии нарушений бронхиальной проходимости, артериальной гипоксемии и исходных нарушений гемодинамики характерна хорошая субъективная переносимость субмаксимальной физической нагрузки, средние показатели ОФР (2–3 Вт/кг) и адекватный вентиляционный ответ на нагрузку. Наиболее значимым лимитирующим нагрузку фактором для этих больных является снижение адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы, что может быть связано в том числе с детренированностью организма. Регулярная физическая активность при средней мощности и интенсивности нагрузок с ЧСС до 150 уд/мин способна, по-видимому, повысить адаптационные возможности сердца и улучшить переносимость нагрузок этими больными. Для больных с тяжелым течением МВ, генерализованными нарушениями бронхиальной проходимости, артериальной гипоксемией даже при отсутствии патологии со стороны сердца характерно снижение ОФР, при этом у всех детей отмечается снижение адаптационных возможностей дыхательной системы по обеспечению организма кислородом при субмаксимальной физической нагрузке, что у некоторых больных сопровождается и неадекватным гемодинамическим ответом. Эти больные нуждаются в ограничении физических нагрузок, индивидуальном подборе их мощности и интенсивности.

Список литературы:

1. Hebestreit H., Kieser S., Junge S. et al. Long-term effects of a partially supervised conditioning programme in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2010; 35: 578–583.
2. Lysinger J., Larson J., Leu S-Y et al. Cardiorespiratory Responses to Repeated 2-min Constant Work Rate Exercise in Children with Cystic Fibrosis. *FASEB J* apr 2007; 21: A934.
3. Klijn P.H.C., Oudshoorn A., van der Ent C.K. et al. Effects of Anaerobic Training in Children With Cystic Fibrosis: A Randomized Controlled Study. *Chest*, Apr 2004; 125: 1299 – 1305.
4. Teoh O.H., Trachsel D., Mei-Zahav M. et al. Exercise testing in children with lung diseases. *Paediatr Respir Rev* Sep 2009; 10(3): 99–104.
5. Radtke T., Faro A., Wong J. et al. Exercise testing in pediatric lung transplant candidates with cystic fibrosis. *Pediatr Transplant*, May 1, 2011; 15(3): 294–9.
6. Савельев Б.П., Ширяева И.С. Функциональные параметры системы дыхания у детей и подростков: Руководство для врачей. Москва: Медицина; 2001: 115–124, 180–186
7. Selvadurai H.C., McKay K.O., Blimkie C.J. et al. The Relationship between Genotype and Exercise Tolerance in Children with Cystic Fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, Mar 2002; 165: 762 – 765.
8. Фесенко И.Д. Особенности течения бронхообструктивного синдрома при хронических болезнях легких у детей: Автореф. дис. канд. мед. наук. Москва; 2005.
9. Klijn P.H.C., van der Net J., Kimpen J.L. Longitudinal Determinants of Peak Aerobic Performance in Children With Cystic Fibrosis et al. *Chest*, Dec 2003; 124: 2215 – 2219.
10. Белоконь НА., Кубергер М.Б. Болезни сердца и сосудов у детей: Руководство для врачей. Т. 1. М.: Медицина, 1987: 111–128.
11. Pahl E., Duffy C.E., and Chaudhry F.A. The role of stress echocardiography in children. *Echocardiography*, Jul 2000; 17(5): 507–12.
12. Kimball T.R. Pediatric stress echocardiography. *Pediatr Cardiol*, May 2002; 23(3): 347–57.

Васильева Т.Г.^{1,2}, Шишацкая С.Н.², Павлова Я.Е.¹

¹ ГБУЗ «Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи», Владивосток

² ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет»

Актуальность проблемы

В мировой статистике отмечается положительная динамика показателей, отражающих продолжительность жизни больных муковисцидозом (МВ). За последние десять лет в России медиана выживаемости данного контингента пациентов и число больных, достигших 18 летнего возраста, увеличились в 1,3 и 1,7 раза, соответственно [1]. Так, в структуре больных МВ в Приморском крае до 2000 г. взрослые составляли около 4%, а в настоящее время – $33,96 \pm 6,50$ % (средний возраст $24,25 \pm 5,95$ лет). Однако данное заболевание относится к тяжёлой патологии детского возраста с ранней манифестацией клиники полиорганного поражения. Количество умерших больных составляет 13,6 – 15,5% [1,2]. Наиболее тяжело при МВ поражаются органы дыхания и желудочно – кишечного тракта, тяжесть повреждения которых коррелирует с прогнозом заболевания. Знание факторов, влияющих на течение МВ у детей, способствует повышению уровня оказания специализированной медицинской помощи данному контингенту пациентов, более эффективному лечению больных.

Цель работы: изучить распространённость, структуру клинических проявлений МВ, факторы, неблагоприятно влияющие на течение заболевания у детей с учётом данных медико-социальных, генетических, иммунологических, бактериологических, функциональных, инструментальных методов исследования.

Материалы и методы исследования

Обследованы дети ($n=71$) с верифицированным диагнозом МВ (возраст от 6 мес. до 18 лет; средний возраст $9,93 \pm 2,59$ лет). Мальчики составляли $60,37 \pm 5,80$ %, девочки – $39,63 \pm 5,80$ % ($p < 0,001$). При постановке диагноза были использованы общепринятые клинико-диагностические и классификационные критерии [3,4]. Смешанная форма заболевания была выявлена у $85,91 \pm 4,13$ больных ($p < 0,001$), преимущественно лёгочная форма – у $8,46 \pm 3,30$ %, кишечная – у $5,63 \pm 2,73$ % обследованных детей. Тяжёлое течение МВ было у $28,17 \pm 5,31$ %, средней степени тяжести – у $61,97 \pm 5,56$ %, лёгкое – у $9,86 \pm 3,57$ % пациентов (балльная шкала Швахмана – Брасфильда). Были использованы результаты определения неонатального иммунореактивного трипсина (ИРТ) у 102251 новорождённых. Изучена структура 13 мутаций в гене трансмембранного регулятора проводимости (МВТР) у 41 больного МВ. Всем пациентам проведён комплекс исследования (в динамике): соматометрия, рентгенография, компьютерная томография органов грудной клетки, придаточных пазух носа, спирография (с 6 лет), определение сатурации O_2 в крови, ультразвуковое сканирование печени, желчного пузыря и поджелудочной железы (аппарат Aloka SSD-2000), фиброгастроэнтероскопия ($n=33$; метод Г.Б. Гершман, 1979), хромоэзофагоскопия желудка с 0,3% раствором конго-красного (метод K.Okuda, 1973), скрининг-тест определения *Helicobacter pylori* (уреазный), бактериологическое исследование мокроты/слизистой зева, носа. Для статистической обработки материалов исследования был использован пакет прикладных программ STATISTICA 6.0 для персонального компьютера по программе в операционной среде «Statistika for Windows – 2000» [5].

Результаты исследования

По данным неонатального скрининга МВ был диагностирован у 15 детей. На сентябрь 2011 г. заболеваемость в Приморском крае составила 1 больной на 6816 новорождённых (средние показатели в России за 2010 г. 1:10498) [1]. Время диагностического поиска сократилось более чем на 1,5 года. Основными клиническими проявлениями при манифестации заболевания были длительный кашель ($81,72 \pm 4,58\%$), рецидивы бронхообструктивного синдрома ($64,78 \pm 5,65\%$), затяжная или повторные пневмонии ($85,91 \pm 4,12\%$), дистрофия по типу гипотрофии/гипостатуры ($90,14 \pm 3,54\%$), синдром ПсевдоБарттера ($1,42 \pm 0,14\%$), выпадение прямой кишки ($7,04 \pm 3,03\%$), мекониальный илеус ($4,22 \pm 2,38\%$). Ведущая причина смерти 11 больных (за 13 лет наблюдения; средний возраст $6,38 \pm 3,10$ лет) была декомпенсация лёгочно-сердечной недостаточности (91%).

При проведении корреляционного анализа были установлены достоверные разнонаправленные связи между возрастом появления первых признаков хронической гипоксии ($r = -0,77$; $p < 0,001$), продолжительностью заболевания ($r = 0,43$; $p < 0,05$), степенью инфицирования *P. aeruginosa* ($r = 0,68$; $p < 0,01$), тяжестью гипотрофии/гипостатуры ($r = 0,78$; $p < 0,001$), частотой обострений воспалительного процесса в лёгких и бронхах ($r = 0,48$; $p < 0,01$), степенью выполнения рекомендаций врача пациентами и их родителями ($r = -0,62$; $p = 0,01$), степенью обеспеченности больных современными лекарственными препаратами ($r = -0,38$; $p < 0,1$) и **тяжестью** рентгенологических/КТ, функциональных нарушений со стороны органов дыхания (снижение сатурации O_2 , $ОФВ1$), появлением фенотипических признаков хронической гипоксемии.

При исследовании структуры трансмембранного регулятора проводимости (МВТР) было установлено, что 50% выявленных мутаций относились к I и II классам (нарушение синтеза протеина и нарушение процессинга и транспорта). Структура полиморфизмов была следующей: F508del/ F508del – 19%; F508del/- – 25%; F508del/ del21kb – 11%; F508del/138ins – 3%; del21kb/- 6%, 2184insA/del21kb, 2184insA/- и 2184insA/2143delT – до 3%, каждая. Все умершие дети имели смешанную форму МВ, которая ассоциировалась с высокой детерминацией F508del – 72%. Они в 2 раза чаще, чем в общей группе больных, были гомозиготами по данной мутации.

Прогноз и тяжесть МВ зависят от ранней диагностики бактериальной колонизации /инфекции лёгких, от спектра микробных патогенов [6]. При проведении бактериологических анализов было установлено, что 36% больных МВ выделяли *P. aeruginosa*, 90% – *St.aureus*, а 2,9% – *B.ceracia complex*. При этом чаще регистрировалась смешанная инфекция: *Ps.aeruginosa* – 11%; *St.aureus*+*Ps.aeruginosa* – 14%; *St.aureus*+*Ps.aeruginosa*+*Candida* – 11%; *St.aureus* – 26%; *Citrobacter* – 3%; *St.aureus*+*Str.haemolyticus* – 3%; *St.aureus*+*Str.pyogenes* – 3%; *St.aureus*+*Enterobacter aerog.*+*Candida* – 3%; *St.aureus*+*M.pneumoniae* – 3%; *Str.pneumoniae* – 5%; *St.aureus*+*B.ceracia* – 3%. В 15% случаев возбудитель хронического воспаления не был выделен.

Была отмечена высокая инфицированность *P. aeruginosa* детей с тяжёлым течением заболевания. Так 83% умерших больных имели хроническую *mix* инфекцию (*P. aeruginosa* + грибы+бакт.) У 69% детей с тяжёлым МВ в анамнезе развилась резистентность *P. aeruginosa* к наиболее часто применяемым антисинегным антибиотикам.

Одним из критериев тяжести МВ и неблагоприятного его исхода было присоединение лёгочных осложнений. У обследованных больных были диагностированы спонтанный пневмоторокс ($2,62 \pm 1,89\%$), лёгочное кровотечение ($2,30 \pm 1,77\%$), ателектаз лёгкого ($7,86 \pm 3,19\%$). Значительно ухудшало качество жизни пациентов, утяжеляло хроническую гипоксемию полипозное разрастание слизистой верхних дыхательных путей (полипозный ринит, синусит), которое регистрировалось у $18,43 \pm 4,60\%$ больных. Хроническая патология ЛОР органов была диагностирована у $41,30 \pm 5,84\%$, аллергические заболевания органов дыхания – у $34,35 \pm 5,63\%$

детей с МВ. Это было обусловлено доказанной сенсibilизацией к грибковым и бактериальным аллергенам на фоне персистирующей инфекции, частой антибактериальной терапии, пищевой непереносимости, синдрома избыточного бактериального роста, иммунологического дефицита [7].

Нутритивная недостаточность, обусловленная, в первую очередь, хронической экзокринной недостаточностью поджелудочной железы, синдромом мальабсорбции, усугубляла течение и прогноз МВ у детей ($r=0,78$; $p<0,001$). Внедрение в практику ферментотерапии в виде минимикросфер существенно повысило эффективность лечения больных МВ. Было установлено, что прогрессирующая белково-энергетическая недостаточность на фоне высоких доз креона (более 9 тыс. ЕД на 1 кг/сут.) является неблагоприятным прогностическим признаком. Нарушение экскурсии диафрагмы, зондовое кормление тяжёлых больных, постуральная терапия, кинезитерапия, использование в лечении антихолинергических препаратов, бета-блокаторов и пр. вызывают функциональные нарушения органов ЖКТ, которые влияют на процесс доставки ферментов в тонкий кишечник, снижают эффективность заместительной терапии.

При проведении инструментальных методов ($n=33$) исследования были получены следующие результаты. В периоде клинических проявлений МВ у трети пациентов ($36,40\pm8,36\%$) определялись изменения пищевода, в $45,50\pm8,68\%$ случаев – воспалительные изменения слизистой оболочки желудка, у половины обследованных ($51,50\pm8,66\%$) – патология слизистой оболочки тонкой кишки. И лишь у каждого третьего больного эндоскопическая картина соответствовала возрастной норме. К периоду ремиссии МВ было констатировано невыраженное ($p>0,05$) снижение частоты встречаемости изменений слизистой оболочки пищевода ($18,23\pm6,70\%$), желудка ($33,30\pm8,21\%$) и тонкой кишки ($39,40\pm8,53\%$). У 5 ($15,15\pm0,42\%$) детей были выявлены признаки нарушения замыкательной функции кардии. У 12 пациентов ($36,40\pm0,75\%$) был диагностирован рефлюкс-эзофагит 1 степени с рН 4,0 (норма 6,0–8,0) [8]. У 3 пациентов с биллиарным циррозом выявлено варикозное расширение вен пищевода.

На фоне проведения курсов прокинетиков, антацидов и постуральной терапии у большей части пациентов была отмечена нормализация эндоскопической картины, в течение 4–6 месяцев не было клинических проявлений эзофагита ($p<0,05$). У 2 больных с нарушениями замыкательной функции кардии сохранялись явления гастроэзофагеального рефлюкса. У $18,20\pm6,72\%$ больных определялось замедленное опорожнение желудка, о чем свидетельствовало наличие содержимого с непереваженными кусочками пищи. У трети пациентов ($27,30\pm7,80\%$) определялись воспалительные изменения (гиперемия, отек) слизистой желудка, преимущественно антрального отдела, характерные поверхностной (эритематозной) гастропатии. Из них у $12,10\pm5,72\%$ данные изменения сочетались с дуоденогастральным рефлюксом (ДГР). Косвенные эндоскопические признаки атрофической гастропатии выявлены у $18,20\pm6,72\%$ детей. Повышенный уровень кислотообразования у пациентов с МВ встречался в 2/3 случаев, сохраненный – у трети пациентов, и у лишь $6,52\pm4,28\%$ больных уровень кислотообразования был ниже нормы. Инфицированность *H. pylori* (по данным уреазного теста) детей с МВ ($27,30\pm7,80\%$) была реже, чем в общей популяции [9].

При динамическом наблюдении за больными МВ в периоде клинической ремиссии на фоне терапии (эрадикация *H. pylori*, прокинетики, мукоцитопротекторы) тенденции к улучшению визуального состояния не было отмечено ($p>0,05$), при этом у $12,12\pm5,68\%$ детей сохранялись признаки атрофии, у $33,30\pm8,20\%$ пациентов – гиперемия и отек слизистой тела и антрального отдела желудка. Из них у $18,20\pm6,70\%$ больных данные изменения были обусловлены реактивным воздействием ДГР. У $51,51\pm8,72\%$ детей в периоде клинических проявлений МВ определялись изменения слизистой луковицы и постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки. Наряду с этим почти у половины больных выявлены косвенные эндоскопические признаки поражения поджелудочной железы: развернутая подкова луковицы двенадцатиперстной кишки ($48,50\pm8,70\%$), белесоватый налет, напоминающий хлопья снега (симптом «иней») в проксимальном отделе двенадцатиперстной кишки ($66,70\pm8,20\%$).

В периоде клинической ремиссии на фоне заместительной терапии у $33,30 \pm 8,20\%$ детей сохранялся налет по типу «манной крупы» и у $21,21 \pm 7,13\%$ – развернутая подкова луковицы двенадцатиперстной кишки. Кроме того, у $71,12 \pm 5,37\%$ больных МВ диагностировались изменения со стороны гепатобилиарного тракта: дисхолия у каждого второго пациента; ЖБ – у $2,62 \pm 1,80\%$ больных; холестатический гепатит – у $12,67 \pm 3,94\%$; цирроз печени – у $8,80 \pm 3,36\%$ детей.

Заключение

Муковисцидоз в Приморском крае встречается чаще, чем в среднем по России, что диктует необходимость решения многих организационных вопросов, направленных на улучшение качества медицинского обслуживания данного контингента пациентов. Полученные результаты исследования важно знать при составлении индивидуальной программы ведения больных МВ с учётом факторов риска неблагоприятного течения заболевания: наличие полиморфизма MBTP F508del/ F508del, поздняя верификация диагноза, манифестация заболевания с тяжёлой смешанной формы, раннее хроническое инфицирование *P. aeruginosa* на фоне прогрессирующей дистрофии, вторичного иммунодефицита, отсутствия чёткой мотивации у больных в необходимости систематического и постоянного лечения, должного контроля за проводимой терапией и лекарственным обеспечением. Внедрение современных методов лечения МВ: ферментотерапия (креон), муколитики (пульмозим, производные амбrogексала), холеретики и гепатопротекторы (урсодезоксихолевая кислота), прокинетики, антисинегнойные антибиотики для парентерального введения позволили увеличить продолжительность жизни при МВ.

Но при этом необходимо решение следующих проблем: профилактика инфицирования *P. aeruginosa*, *B. ceratia complex* (создание специализированного боксированного стационара); стандартизация лечения хронической синегнойной инфекции с обеспечением больных современными ингаляционными антибиотиками, портативными аппаратами для кислородотерапии в амбулаторных условиях; коррекции нутритивного статуса на фоне полипрагмазии, частого использования антибиотиков, напряжения работы системы детоксикации, иммунного статуса на фоне хронической персистенции микробного возбудителя, сенсибилизации к грибковым и бактериальным аллергенам.

Библиография

1. Красовский С.А., Черняк А.В., Амелина Е.Л. и др. Выживаемость больных муковисцидозом в Москве и Московской области за период 2000 – 2010 г.г. Муковисцидоз у детей и взрослых: сб. статей и тезисов X Юбилейного Национального конгресса. Ярославль; 2011:49.
2. Васильева Т.Г., Шишацкая С.Н. Факторы риска неблагоприятного исхода муковисцидоза у детей. Сборник материалов 15 Конгресса педиатров России с межд. участием «Актуальные проблемы педиатрии», М.; 2011:117.
3. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Толстова В.Д. Муковисцидоз. Ранняя диагностика и лечение. М.: Гэотар-Медиа; 2008.
4. Современная классификация клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей. Педиатрия 2010; 89, 4: 6–15.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера; 2006.
6. Радионович А.М., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Клиническое значение длительного применения субтерапевтических доз макролидов при хронической синегнойной инфекции у больных муковисцидозом. Пульмонология: приложение по муковисцидозу. 2006; 40–46.
7. Цывкина Г.И., Васильева Т.Г., Грищенко Д.Ж. Применение иммуностропной терапии при муковисцидозе. Сборник материалов XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство», М.; 2009:466–467.
8. Павлова Я. Е. Эндоскопическая и функциональная оценка состояния слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при синдроме нарушенного кишечного всасывания у детей: дис. ... канд. мед. наук. Иркутск; 2005: 52–58.
9. Бельмер С.В., Хавкин А.И. (ред.) Гастроэнтерология детского возраста. М.: Медпрактика; 2003.

Кондратенко О.В.¹, Васильева Е.А.², Лямин А.В.¹

¹ ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ и СР России, кафедра общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, Самара, Россия

² Самарский областной центр по лечению муковисцидоза, ММУ «Детская городская клиническая больница №1 им. Н.Н. Ивановой», Самара, Россия

Введение

В современной медицине проблема муковисцидоза приобретает все большую актуальность. Благодаря ранней диагностике, повышению качества антимикробной и энзимотерапии продолжительность жизни таких больных в России существенно возросла, что позволило открыть перед врачами новые аспекты данной патологии [1,2]. Врожденная ферментативная недостаточность поджелудочной железы, дискинезия кишечника, наличие хронической бактериальной инфекции нижних дыхательных путей и, как следствие, необходимость длительной антимикробной терапии не могут не отражаться на составе и свойствах микрофлоры кишечника у этой группы пациентов [3,4]. Контаминация желудочно-кишечного тракта отделяемым нижних дыхательных путей в период обострения бронхолегочного процесса, на фоне уже имеющихся дисбиотических изменений в кишечнике, создает возможности для его колонизации патогенной микрофлорой. Кроме того, длительная и регулярная антимикробная терапия способна приводить к селекции резистентных штаммов микроорганизмов, в том числе, в кишечнике [5]. Учитывая вышеизложенное, изучение структуры и свойств штаммов, выделенных из кишечника детей с муковисцидозом, представляет научный и практический интерес.

Целью работы было определение качественного и количественного состава факультативно-анаэробной грамотрицательной микрофлоры кишечника у детей с муковисцидозом с оценкой их биологических свойств и профилей антибиотикорезистентности.

Материал и методы

Обследовано 40 детей с муковисцидозом в возрасте от 1 года до 18 лет, наблюдающихся на базе Самарского областного центра по лечению муковисцидоза (руководитель – Е.А. Васильева). Среди обследованных пациентов было 20 (50%) мужского и 20 (50%) женского пола. У подавляющего большинства детей клинические признаки заболевания отмечались уже в первые месяцы, а диагноз был выставлен на первом году жизни. Большинство больных отмечали плохую прибавку в весе, частые респираторные заболевания, жирный зловонный стул.

У 4 (10%) детей диагноз был поставлен на основании данных неонатального скрининга, что позволило начать коррекцию заболевания в ранние сроки. У 11 (27,5%) пациентов определена генетическая мутация (в большинстве случаев выявлена delF508). У 1 (2,5%) пациента выявлена мутация 2184insA. У остальных больных не проводилось определение генетической мутации. Большинство обследованных детей – 38 (95%) имели смешанную форму муковисцидоза. Реже отмечалась кишечная форма болезни – у 2 (5%) пациентов. Заболевание наиболее часто протекало в тяжелой и среднетяжелой форме: у 28 (70%) и 12 (30%) пациентов, соответственно. 18 (45%) детей имели высев неферментирующих грамотрицательных бактерий из мокроты в анамнезе.

Все пациенты получали стандартную терапию: ферменты, гепатопротекторы, муколитики, витамины, антибиотики курсами (при обострении бактериальной инфекции дыхательных путей с учетом чувствительности выделенной флоры).

Обследование проводилось в период госпитализации детей в центр по лечению муковисцидоза. В качестве исследуемого материала использовали отделяемое кишечника. Кал собирался у детей в утренние часы, доставлялся в лабораторию в течение 2-3 часов после сбора. Посев исследуемого материала проводился на элективные и дифференциально-диагностические среды. Оценивали количество и морфологию выросших колоний, проводили видовую идентификацию с помощью биохимических тестов, оценивали гемолитическую активность, определяли чувствительность выделенных штаммов грамотрицательных бактерий к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом, для выделенных энтеробактерий определяли способность к продукции β -лактамаз расширенного спектра действия (ESBL) методом двойных дисков в соответствии с МУК 4.2.1890-04.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования выделено 96 штаммов микроорганизмов. Из них грамотрицательных палочек 63 (65,5%), среди которых были 42 (66,7%) представителя семейства *Enterobacteriaceae* и 21 (33,3%) представитель неферментирующих грамотрицательных бактерий. Среди энтеробактерий выделены 26 (61,9%) штаммов *Escherichia coli*, 13 (31,0%) штаммов *Klebsiella* spp. и 3 (7,1%) штамма *Proteus* spp. Среди неферментирующих грамотрицательных бактерий выделены 20 (95,2%) штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, 1 (4,8%) штамм *Stenotrophomonas maltophilia*. Среди прочей флоры выделены 31 (32,3%) штамм *Enterococcus* spp., 1 (1,0%) штамм *Streptococcus* spp. и грибы рода *Candida* – 1 (1,0%) штамм. В 6 (14,7%) случаях микроорганизмы выделялись в монокультуре, наиболее часто в миксте из двух – 20 (48,8%) или трех – 12 (29,2%) штаммов бактерий, в 3 (7,3%) случаях выделялись 4 и более штаммов микроорганизмов от одного пациента.

В 3 (7,3%) случаях от одного ребенка было выделено два и более штамма бактерий одного вида из кишечника.

Нами также было определено, что 14 (22,2%) штаммов энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий обладали выраженной гемолитической активностью.

Определенный клинический интерес, на наш взгляд, представляет соотношение микрофлоры, выделенной из кишечника, и микрофлоры, выделенной из дыхательных путей пациентов. У 19 (47,5%) детей были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии из кишечника. При этом у 13 (72,2%) из них были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии из мокроты в анамнезе.

У 6 (27,8%) детей, у которых были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии из кишечника, не были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии из мокроты в анамнезе. У 18 (45%) пациентов отмечалось выделение неферментирующих грамотрицательных бактерий из мокроты в анамнезе. При этом только у 6 (33,3%) из них не были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии из кишечника. У 15 (37,5%) больных не были выделены неферментирующие грамотрицательные бактерии ни из кишечника, ни из мокроты в анамнезе.

У всех выделенных нами штаммов грамотрицательных палочек была проведена оценка антибиотикорезистентности. Среди штаммов *Escherichia coli* 84,6% обладали устойчивостью к ампициллину и 7,7% к амоксициллин/клавуланату. 38,5% штаммов были устойчивы к амикацину и 42,3% к гентамицину. Резистентность к ципрофлоксацину составила 23,1%, к левофлоксацину – 23,1%. Уровень резистентности к ко-тримоксазолу составил 73,1%. К цефтазидиму оказались устойчивы 46,2% штаммов, а к цефепиму – 46,2%; к имипенему и меропенему резистентность составила 7,7%. Все штаммы были чувствительны к цефоперазон/сульбактаму. У 46,2% штаммов определялись фенотипические признаки продукции ESBL.

Среди штаммов *Klebsiella* spp. 100,0% обладали устойчивостью к ампициллину и 23,1% к амоксициллин/клавуланату. 23,1% штаммов были устойчивы к амикацину и 15,4% – к гентамицину. Резистентность к цiproфлоксацину составила 7,7%, к левофлоксацину – 7,7%. Уровень резистентности к ко-тримоксазолу составил 69,2%. К цефтазидиму оказались устойчивы 76,9% штаммов, а к цефепиму – 69,2%. К имипенему резистентность составила 7,7%. Все штаммы были чувствительны к цефоперазон/сульбактаму и меропенему. У 69,2% штаммов определялись фенотипические признаки продукции ESBL.

Штаммы *Proteus* spp. обладали устойчивостью к ампициллину и к амоксициллин/клавуланату в 33,3% случаев. 33,3% штаммов были устойчивы к амикацину и 66,7% к гентамицину. Резистентность к цiproфлоксацину и левофлоксацину составила по 33,3%. К ко-тримоксазолу оказались чувствительны все штаммы, к цефтазидиму и цефепиму оказались устойчивы по 33,3% штаммов. К имипенему и меропенему резистентность составила по 33,3%. Все штаммы были чувствительны к цефоперазон/сульбактаму. У 33,3% штаммов определялись фенотипические признаки продукции ESBL.

Среди штаммов *P.aeruginosa* наибольший уровень антибиотикорезистентности отмечался к левофлоксацину (60,0%), к цiproфлоксацину – 20,0%; к амикацину – 30,0% и гентамицину – 25,5%, соответственно; к цефалоспорином III и IV поколения по 20,0%. Отмечался высокий уровень резистентности к карбапенемам: к имипенему в 40,0%, к эртапенему – в 20,0% случаев. Резистентность к пиперациллин/тазобактаму составила 11,7%.

Штамм *S.maltophilia* оказался резистентным к карбапенемам, аминогликозидам, цiproфлоксацину, левофлоксацину; чувствительным к цефтазидиму, ко-тримоксазолу.

Выводы:

- Качественное и количественное соотношение факультативно-анаэробной грамотрицательной микрофлоры кишечника у детей с муковисцидозом отличается от нормальной микрофлоры кишечника у здорового детского населения. Отмечается заметно более высокое содержание неферментирующих грамотрицательных бактерий.
- Штаммы грамотрицательных факультативно-анаэробных бактерий, выделенных из кишечника детей с муковисцидозом, являются агрессивными по своим свойствам: обладают выраженной антибиотикорезистентностью и гемолитической активностью. Многие штаммы являются продуцентами ESBL.
- Выявлена зависимость между колонизацией неферментирующими грамотрицательными бактериями эпителия дыхательных путей и кишечника, что, вероятно, является результатом контаминации кишечника отделяемым дыхательных путей. Это обстоятельство может быть полезным для клиницистов при работе с пациентами, которые в виду возрастных или иных особенностей испытывают трудности со сбором мокроты.

Библиография

1. Гембицкая Т.Е., Черменский А.Г., Ковалева Л.Ф. Муковисцидоз. Состояние проблемы. Достижения на современном этапе. Болезни органов дыхания 2007; (№1): 46-53.
2. Капранов Н.Н. Муковисцидоз – современное состояние проблемы. Пульмонология 2006; (Приложение по муковисцидозу):5-11.
3. Тимковская Е.Е., Петрова Н.В., Каширская Н.Ю. и др. Исследование взаимосвязи CFTR- генотипа и клинических проявлений у больных муковисцидозом. Детская больница 2008; 31 (№1):8-15.
4. Doering G., Hoiby N. Early intervention and prevention of lungs disease in cystic fibrosis: a European Consensus. Journal of Cystic Fibrosis 2004; Jan.3 (2):67-91.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ МВ В ОРЕНБУРЖЬЕ

Скачкова М.А., Рыбалкина М.Г., Карпова Е.Г., Попкова Н.И.

**ГОУ ВПО Оренбургская государственная медицинская академия Минздрав
соцразвития России, кафедра госпитальной педиатрии.**

Цель исследования. Определить состав и чувствительность бактериальной микрофлоры больных МВ Оренбургской области на современном этапе.

Материалы и методы. В исследование включены 40 больных МВ в возрасте от 1 месяца до 22 лет. Длительность наблюдения – 3 года. По тяжести течения были выделены 3 группы: 22 больных – с тяжелым течением, у 7 пациентов МВ средней степени тяжести, у трех – легкое течение заболевания. Всем наблюдаемым проведено бактериологическое исследование мокроты на флору (по Биргеру) с определением видовой идентификации принадлежности выделенных штаммов бактерий и чувствительности к антибиотикам (в бактериологической лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии Оренбургской области, работающей на основании методических указаний МУК 4.21890-04 «Методы контроля: биологические и микробиологические факторы», с использованием диско-диффузионного метода (лицензия № 77.99.03.001. Л.001073.08.05 от 15.08.2005г.), а в лаборатории «Ситилаб» (ЗАО Лаборатория XXI век) при помощи автоматизированных микробиологических анализаторов Walkaway-40 немецко-американского производителя Dade Behring, с использованием флуоресцентной метки в сочетании с использованием луночной технологии культивирования микроорганизмов в жидкой среде) (лицензия № 77-01-000606 от 12.05.2005г.).

Результаты. При сравнении микрофлоры нижних дыхательных путей в 2006г. и в 2009г. было отмечено изменение микробного пейзажа у больных с тяжелым течением муковисцидоза. В начале исследования преобладающей флорой дыхательных путей у больных с тяжелым течением МВ была синегнойная палочка в 58% случаев, золотистый стафилококк и микстная флора – по 16% случаев. В конце исследования у 4 из 22 больных в посевах был выделен новый бактериальный агент – *Acinetobacter*, снизилось количество посевов с синегнойной палочкой (с 58% до 40,9%), но данный микроорганизм все равно оставил за собой лидирующее место в микробном пейзаже больных с тяжелым течением.

Существенных изменений в бактериологическом пейзаже дыхательных путей больных со средней степенью тяжести за период исследования не произошло. В конце исследования преобладающей микрофлорой являлся золотистый стафилококк, только у одного больного был однократный высев синегнойной палочки. Однако, в течение 2009г. у наших больных стал выделяться *Acinetobacter*, как и у больных с тяжелым течением.

При изучении генотипа больных, у которых из посевов мокроты выделена синегнойная палочка, было обнаружено, что преобладающее количество детей имели генотипы *DelF508*/неуточненная мутация или *DelF508/Del21kb* (по 31,25% случаев), две неуточненные мутации (18,75% наблюдений), и *DelF508/DelF508*, *DelF508/R347P*, *DelF508/2184insA* (по 6,25%).

При динамическом наблюдении за чувствительностью микроорганизмов к антибактериальным средствам были выявлены изменения данного параметра у штаммов выделяемой синегнойной палочки.

В 2006г большинство штаммов синегнойной палочки у наших больных имело достаточно высокую чувствительность к большинству используемых антибиотиков различных классов. В 2009г. При анализе полученных данных обращает особое

внимание факт снижения чувствительности к «традиционно» используемым препаратам первой линии при синегнойной инфекции цефтазидиму (с 75 до 37,5%), амикацину (с 62,5 до 50%), гентамицину (с 75 до 55,56%), тобрамицину (со 100 до 66,67%), имипенему (со 100 до 87,5%), меропенему (со 100 до 83,3%). Сохраняется 100% чувствительность к полимиксину В. Интересен факт повышения чувствительности синегнойной палочки к ципрофлоксацину с 50 до 71,42% штаммов.

Согласно литературным данным, достаточно часто в отделениях интенсивной терапии у тяжелых больных диагностируют ацинетобактерную инфекцию, характеризующуюся не только очень быстрым распространением среди больных, но и возрастанием числа летальных исходов [1, 2]. Так на сегодняшний день только в Тель-Авиве ежегодно регистрируют около 500 случаев, 50 из которых заканчиваются летальным исходом. Кроме того, практически не возможно достичь его полной эрадикации. В Оренбургской области *Acinetobacter* является новым среди микроорганизмов, выделяемых из мокроты больных МВ и представлен тремя генетическими видами: *Acinetobacter Iwoffii* (у 3 больных с генотипами – DelF508/неуточненная мутация (в двух случаях) и DelF508/R334W) *Acinetobacter baumannii/haemolyticus* (у двух детей с генотипами DelF508/DelF508 и DelF508/неуточненная мутация), и *Acinetobacter calcoaceticus* (у 1 наблюдаемого). Только в одном случае *Acinetobacter baumannii/haemolyticus* был резистентен к β -лактамам, хотя по литературным данным к этой группе антибиотиков *Acinetobacter* чувствительны.

В последнее время возросла роль *Burkholderia cepacia*. Данный возбудитель, по данным многих авторов, способен формировать множественную лекарственную устойчивость к широкому спектру антимикробных препаратов с различными механизмами действия [3; 4; 5]. Течение инфекции, вызванной *Burkholderia cepacia*, при МВ различно. Примерно у 1/3 больных отмечаются частые обострения бронхолегочного процесса, развивается сераси́а – синдром. У других больных появление нового возбудителя никак не влияет на течение основного заболевания. Однако, наличие в мокроте *Burkholderia cepacia* повышает риск развития суперинфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* и *Staphylococcus aureus* [3; 5; 6; 7]. Среди наших больных, лишь у одной девочки было однократное выделение из мокроты *Burkholderia cepacia* во время одной из госпитализаций в Российскую Детскую Клиническую больницу (г.Москва).

Выводы

Наличие *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter* в посевах мокроты коррелирует с тяжестью МВ. Отмечено снижение чувствительности синегнойной палочки к традиционно используемым препаратам первой линии (цефтазидиму, амикацину, гентамицину, тобрамицину, имипенему, меропенему), что позволяет сделать вывод о необходимости поиска других антибиотиков, либо сочетания уже используемых препаратов с другими лекарственными средствами потенцирующими бактерицидное действие антибактериальных средств.

Список литературы

1. Белоцерковский Б.З., Гельфанд Е.Б., Попов Т.В. и др., «Проблемные госпитальные микроорганизмы. *Acinetobacter* spp. – возбудитель или свидетель?». *Consilium medicum*. Инфекции в хирургии том 6 №1 / 2008.
2. Гельфанд Б.Р., Яковлев С.В., Проценко Д.Н. и др., «Нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких: возможна ли стандартизация терапии?». *Consilium medicum*. Том 06/N 4/2004
3. Extensive genetic analysis in non-classic CF patients / Fichou Y., Audrézet M.P., Trouvé P. // *Journal of Cystic Fibrosis*. – 2008. – Vol. 7. – Supplement 2. – P. S7
4. Longitudinal development of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* infection and lung disease progression in children with cystic fibrosis / Li Z., Kosorok M.R., Farrell P.M., et al. // *JAMA*, 2005, – №293 (5). – P. 581-588.
5. Factors associated with poor pulmonary function: cross-sectional analysis of data from the ERCF // Navarro J., Rainisio M., Harms H.K. et al. // *European Respiration Journal*. – 2001. – Vol. 18. – P. 298.
6. Характеристика поражений пищеварительной системы у детей с муковисцидозом при ультразвуковом и эндоскопическом исследовании / Турку О., Щука С., Киорогло Э., и др // VIII Национальный конгресс «Муковисцидоз у детей и взрослых». – 5-6 июня 2007г. – Ярославль. – С.160-161
7. Харченко В.П., Глаголев Н.А. Рентгеновская компьютерная томография в диагностике заболеваний органов и средостения. – М.: Медика, 2005. – 120с.

Барбова Н.И., Егоров В.В.

Национальный Центр Репродуктивного Здоровья и Медицинской Генетики, Республика Молдова, Кишинев

Муковисцидоз (МВ) (*Cystic Fibrosis*) – наиболее частая из моногенно-наследуемых полиорганная патология, обусловленная мутацией гена трансмембранного регулятора проводимости (*cystic fibrosis transmembran conductance regulator* – *CFTR*), характеризующаяся поражением экзокринных желез жизненно важных органов и имеющая обычно тяжелое течение и прогноз [1].

Тип наследования МВ – аутосомно-рецессивный, патогенез болезни связан с нарушением в обоих аллелях одного гена. Родители больного ребенка здоровы, но являются гетерозиготными носителями мутаций гена *CFTR*. Генетический риск, т.е. вероятность рождения ребенка с МВ, в такой семье высок и равен 25% [1].

Ген *CFTR*, идентифицированный в 1989 году, состоит из 250 тыс. пар оснований, включает 27 экзонов, локализован в середине длинного плеча 7 хромосомы. На сегодняшний день выделено более 1800 мутаций гена *CFTR* (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). Мутации гена *CFTR* можно подразделить на шесть общих классов в зависимости от типа известного или предполагаемого молекулярного нарушения: класс I – нарушение синтеза протеина: *G542X*, *W1282X*, *R553X*, *621+1G-T*, *2143delT* и др.; класс II – нарушение процессинга или транспорта: *F508del*, *N1303K*, *d1507*, *S5491*, *S549R*; класс III – нарушение регуляции: *G551D*, *G1244E*, *S1255P*; класс IV – снижение проводимости: *R334W*, *R347P*, *R117H*; класс V – снижение уровня нормальных молекул белка или РНК: *3849+10kbC>T*, *A455E*, *IVS8(5T)*, *1911+1,6kbA-G*; класс VI – изменение свойств регуляции других ионных каналов: *G551D* [1,3,4,5].

МВ характеризуется широкой вариабельностью клинических проявлений, что не всегда можно объяснить значительным разнообразием мутаций в гене *CFTR*. Многочисленные исследования последних лет показали, что клинический полиморфизм МВ является следствием взаимодействия многих генетических факторов: *CFTR*-мутаций, модифицирующих вариантов как в гене *CFTR*, так и в других генах, также велико влияние факторов окружающей среды и терапии [3,4,5,6].

Одним из эффективных способов профилактики (МВ) является пренатальная диагностика (ПД) в семьях высокого риска. Пренатальная ДНК-диагностика предполагает определение генотипа плода на ранних сроках беременности. С этой целью используются молекулярно-генетические методы исследования в I-м или II-ом триместрах беременности. Выявление мутаций гена *CFTR* у плода позволяет с абсолютной достоверностью устанавливать его генетический статус, а также решать вопрос о целесообразности сохранения или прерывания беременности [7].

Прерывание беременности представляется наиболее целесообразным при однозначно высоком риске развития у будущего ребенка МВ. Окончательное решение по результатам ПД всегда остается за супругами. Роль врача-генетика заключается в детальном информировании родителей о смысле и результатах проведенных исследований, а также в детальном объяснении всех нюансов существующей ситуации и прогноза [7].

Учитывая, что распределение и частота *CFTR*-мутаций значительно варьируют в зависимости от популяции, поэтому изучение генетических особенностей и фенотипической картины заболевания в многонациональной Молдове представляет как научный, так и практический интерес.

Цель исследования. Клинико-генетический анализ и оценка эффективности пренатальной ДНК-диагностики МВ в Республике Молдова.

Материал и методы исследования. Было проведено комплексное обследование 147 пациентов с МВ в возрасте от 1 месяца до 24 лет, из которых 70 пациентов женского пола и 77 – мужского, обратившихся в Национальный Центр Репродуктивного здоровья и Медицинской генетики с 1992 по 2010 гг. с клиническим диагнозом – МВ, выставленным на основании данных анамнеза, фенотипической картины и положительного потового теста.

Всем больным проводилась ДНК-диагностика МВ. В гене *CFTR*: определяли 9 мутаций (F508del, G542X, N1303K, W1282X, R117H, G551S, R347P, R334W, R553X).

ДНК была выделена из лимфоцитов периферической крови, полученных от больных муковисцидозом и членов их семей, используя методику фенол-хлороформной экстракции (Маниатис, 1984). Для пренатальной диагностики (ПД) заболевания были исследованы 9 образцов ДНК, полученных из амниоцитов или ворсинок хориона, забор которых осуществляли методами амниоцентеза и биопсии хориона.

Полимеразную цепную реакцию проводили в микропробирках типа Eppendorf под минеральным маслом по стандартной схеме (Erlich, 1991) с модификациями, на программируемом приборе Thermal Cycler PNC-1A (Techne, Great Britain) термоциклического типа с использованием ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* производства НПО "Fermentas" (Литва). Амплификация специфических участков ДНК осуществлялась в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 0.2 mM каждого dNTP, 2.5 mM $MgCl_2$, 0.5 U Taq DNA Polymerase (recombinant), 0.5–1.0 мкг геномной ДНК, 1 мкМ каждого олигонуклеотида и ПЦР буфера состава: 75 mM tris-HCl, 20 mM $(NH_4)_2SO_4$, 0.01% Tween 20, pH 8.8.

В работе использованы эндонуклеазы производства НПО "Fermentas" (Литва) и "Сибэнзим" (Россия), реакцию проводили согласно протоколу фирмы-производителя.

Идентификация F508del мутации в 10 экзоне гена *CFTR* осуществлялась разделением амплифицированных фрагментов. При наличии делеции длина фрагмента на 3 нуклеотида короче по сравнению с нормой (80 bp и 83 bp).

Для идентификации мутаций R334X осуществляли гидролиз амплифицированных фрагментов рестриктазой Msp I при 37°C не менее 12 часов. При наличии мутации исчезал сайт рестрикции, присутствующий в норме для 7-го экзона (фрагменты 190+220 bp), и обнаруживался фрагмент размером 410 bp.

Продукты рестрикции анализировали в 7% или 10%-ном полиакриламидном геле с последующей окраской в растворе бромистого этидия (0,5 мкг/мл) и визуализацией в проходящем УФ-свете при длине волны 312 нм.

В случае невозможности установления типа одной или обеих мутации в гене *CFTR* проводилась молекулярная диагностика МВ за пределами Молдовы: пяти больным – в Центре Муковисцидоза в г. Бордо (Франция), 10-ти пациентам – в Германии (Департамент генетики университетской клиники в г. Ганновере). В работе использовали метод олигонуклеотидной лигазной реакции, матрицей для которой служат продукты ПЦР. При проведении исследования во Франции использовалась мультиплексная панель праймеров, которая позволяет выявлять 36 наиболее распространенных мутаций в гене *CFTR*, в Германии определяли 35 мутаций.

Результаты исследования. Основной клинической формой МВ у обследованных больных была смешанная форма, проявляющаяся поражением бронхолегочного аппарата и выраженными кишечными проявлениями – у 84,6% пациентов, лёгочная форма встречалась в 7,0% случаев, а кишечная – у 8,4% больных. По тяжести течения заболевания больные распределились следующим образом: тяжелая степень – у 70,6% пациентов, средняя отмечена в 27,3%, лёгкая – в 2,1% случаев.

По национальному составу обследованные больные представляли все этнические группы, проживающие в Молдове, и распределились следующим образом: большинство составили представители коренной национальности – молдаване (66,2%), русские – 14,6%, украинцы – 7 %, гагаузы – 6,2 %, болгары – 2,3 % и представители других национальностей – 3,7 % (Табл.1) .

Таблица 1. Национальный состав населения Молдовы в сопоставлении с национальностями обследованных больных

Национальность	% населения	Национальности больных МВ, %
Молдаване	75,8	66,2
Украинцы	8,4	7,0
Русские	5,9	14,6
Гагаузы	4,4	6,2
Болгары	1,9	2,3
Другие	3,6	3,7

* на 1 января 2008 года население Молдовы – 3 572 700 чел. (не включая ПМР)

У 101 пациента с МВ (68,7%) выявлены оба мутантных аллеля, а наиболее часто определялись следующие генотипы: F508del/ F508del – 33 больных, F508del/ 2789+5G>A – 3 пациента, F508del/ G542X – 2, F508del/W1282X – 2. Другие варианты встречались однократно. В 47 случаях (32,0%) была идентифицирована только одна CFTR-мутация, вторую мутацию определить не удалось. Мутация F508del обнаружена у 90 (61,2%) больных МВ и встретилась у 22,5% (33 больных) – в гомозиготном состоянии, у 8,8% (13 пациентов) в компаунде с другими мутациями и у 29,9% (44 больных) – второй мутации не обнаружено данным исследованием (Табл.2) .

Таблица 2. Генотипическая характеристика обследованных больных муковисцидозом

Генотип	Число больных	Относительная частота
F508del/ F508del	33	22,5%
F508del/ ND*	44	29,9%
F508del/ 2789+5G>A	3	2,04%
F508del/ G542X	2	1,4 %
F508del/W1282X	2	1,4 %
F508del /185+1G>T	1	0,7 %
F508del /296 + 1G>T	1	0,7%
F508del/R553X	1	0,7%
F508del/2184 insA	1	0,7%
F508del/CFTRdel2,3	1	0,7%
F508del/G85E	1	0,7%
R334W/ND	1	0,7%
N1303K/G542X	1	0,7%
G542X/2184 insA	1	0,7%
N1303K/ND	2	1,4%
G542X/ND	2	1,4%
1248+1G>A/1677 delTA	1	0,7%
621+1G>T/1898+1G>A	1	0,7%
1898+1G>A/ ND	1	0,7%
3849+10kbC>T/ 3849+10kbC>T	1	0,7%
Мутации идентифицированы, в т.ч. гомозиготы	101	68,7%
гетерозиготы	34	23,2%
Мутации не идентифицированы	67	45,5%
	46	31,3%

* ND– мутация не установлена

Изучение корреляции генотип-фенотип проводились и ранее, но на меньшей выборке больных нашей страны и при анализе менее узкого спектра мутаций [8,9]. Установлена корреляция между мутациями в гене CFTR и клиническими формами МВ: у больных, имеющих две "тяжелые" мутации, преобладает смешанная форма (80,4%). Кишечный синдром отмечался у 92,0% пациентов этой категории.

У всех больных с генотипом F508del/ F508del отмечался ранний дебют и тяжелое течение МВ в смешанной форме. На сегодняшний день 34,9% больных из этой группы умерли. Мутация N1303K приводила к тяжелому течению МВ в смешанной форме. Больной с ранним дебютом МВ, которому проводилась дифференциальная диагностика с врожденным гепатитом, имел генотип G551D/ CFTRdele2,3.

Мутация G542X в сочетании с неидентифицированной мутацией была выявлена у пациентки со средне-тяжелым течением МВ, состояние больной характеризуется устойчивой клинической ремиссией с редкими обострениями хронического бронхолегочного процесса.

Генотип G542X/2184 insA приводил к тяжелому течению МВ с дебютом в периоде новорожденности, который проявлялся затяжной пневмонией, тяжелой гипотрофией и выраженной панкреатической недостаточностью.

Мутация 2789+5G>A в компаунде с мутацией F508del приводила к панкреатической недостаточности и редким обострениям хронического бронхолегочного процесса. Представляет интерес наблюдение у трех братьев. Двое из них состояли на учете в нашем Центре с диагнозом МВ, у обоих первоначально в нашей лаборатории была идентифицирована только одна мутация F508del, эта же мутация была и у третьего брата, у которого не было выраженных клинических проявлений МВ. Результат потового теста был в пределах 40-50 ммоль/л. Все дети страдали снижением нутритивного статуса, были из семьи с низким достатком, поэтому идентификация второй мутации, проведенная нашими коллегами из Франции, помогла подтвердить диагноз МВ двум братьям и исключить его в последнем случае. В настоящее время на фоне базовой терапии состояние этих больных стабильно.

Мутация R334W в сочетании с недетектированной мутацией клинически проявлялась медленно прогрессирующим хроническим бронхолегочным процессом и невыраженной панкреатической недостаточностью.

Мутация 3849+10kbC>T в гомозиготном состоянии наблюдалась у больной с нормальным нутритивным статусом, поздним дебютом МВ в легочной форме и не была связана с панкреатической недостаточностью.

У больной с генотипом F508del /185+1G>T заболевание манифестировало кишечным синдромом, легочные проявления присоединились в возрасте 4-х лет. В настоящий момент состояние больной стабильно и характеризуется нормальным нутритивным статусом и редкими обострениями хронического бронхолегочного процесса.

Трудности при постановке диагноза МВ были у больной с генотипом 1248+1G>A/1677delTA. Заболевание проявлялось преимущественно кишечным синдромом и гипотрофией в возрасте до 1 года при отсутствии нарушений со стороны легких. В настоящее время на фоне ферментотерапии состояние больной стабильно.

У больных, имеющих две «тяжелые» мутации преобладала смешанная форма МВ (82,1%), легочная форма встречалась в 10,7%, а кишечная – в 7,1% случаев, кишечный синдром отмечен у 92,0% пациентов.

Для больных с неидентифицированными мутациями была характерна высокая доля поражения органов дыхания (70,0%), изолированный кишечный синдром отмечался лишь у 4% обследованных больных.

Аллельные частоты для выявленных мутаций составили 58,84 % (F508del), 1,70 % (2789+5G>A), 1,36 % (G542X), 1,36 % (N1303K), 1,36 % (2184insA), 0,68% (3849+10kbC>T), 0,68% (1898+1G>A), 0,68% (W1282X), 0,68% (CFTRdel2,3), 0,34% (185+1G>T), 0,34% (G85E), 0,34% (1677 delTA), 0,34% (1248+1G>A), 0,34% (621+1G>T), 0,34% (R553X), 0,34% (296 + 1G>T), 0,34% (R334W) (Табл.3).

Необходимо отметить, что для молдавской популяции характерны редкие мутации, так на 67,0% исследованных хромосом приходится лишь 9 мутаций: F508del, 2789+5G>A, G542X, N1303K, 2184insA, 3849+10kbC>T, 1898+1G>A, W1282X, CFTRdel2,3. При этом наиболее частой мутацией в Молдове, как и в большинстве стран Европы, является мутация F508del, которая выявлена в 58,84 % исследованных хромосом, а на остальные 8 мутаций приходится еще 8,16%, еще 8 мутаций идентифицированы при исследовании 2,72% хромосом

Таблица 3. Частота CFTR-мутаций у больных муковисцидозом в Молдове.

Тип мутации	Число исследованных хромосом	Аллельная частота
F508del	173	58,84 %
2789+5G>A	5	1,70 %
G542X	5	1,36 %
N1303K	3	1,36 %
2184insA	3	1,36 %
3849+10kbC>T	2	0,68 %
1898+1G>A	2	0,68 %
W1282X	2	0,68 %
CFTRdel2,3	2	0,68 %
185+1G>T	1	0,34%
G85E	1	0,34%
1677 delTA	1	0,34%
1248+1G>A	1	0,34%
621+1G>T	1	0,34%
R553X	1	0,34%
296 + 1G>T	1	0,34%
R334W	1	0,34%
ND*	89	30,27 %

* ND- мутация не установлена

Мутации, наиболее часто встречающиеся у молдавских пациентов, в большинстве случаев являются «тяжелыми» (F508del, , G542X, N1303K, W1282X, CFTRdel2,3), так как относятся к мутациям I и II классов и приводят к прекращению функциональной активности протеина CFTR. Мутация V класса 3849+10kbC>T приводит к снижению уровня нормальных молекул белка и относится к «мягким» мутациям. Мутация 2789+5G>A, выявленная преимущественно у больных гагаузской национальности, относится к «варьирующим», поэтому клиническая картина была различной от тяжелого до атипичного течения МВ.

Анализ мутаций в гене CFTR чрезвычайно важен для каждой отдельной популяции и имеет большое значение для формирования спектра рутинно анализируемых мутаций в каждом отдельном регионе. Установление же молекулярного дефекта в каждой семье позволяет проводить ПД с целью профилактики МВ в этих семьях. В нашем исследовании доля информативных семей при анализе гена CFTR составила 68,7% (23,2% семей полностью информативны и 45,5% – частично информативны). Эти семьи высокого генетического риска по МВ были информированы о возможности проведения диагностики CFTR-мутаций у плода.

За период с 2001 по 2011 годы в Молдове была проведена ПД МВ в 9 семьях, в 2 случаях помощь в ее проведении оказывали специалисты из Франции и Украины. До 2010 года в нашей стране дородовая диагностика МВ у плода проводилась методом прямой ДНК-диагностики и в большинстве случаев (5 семей из 6-ти) сводилась к идентификации наиболее распространенной мутации F508del [7]. За последний год проводилась ПД в семьях, где были больные МВ с генотипами: F508del/185+1G>T и F508del/ G542X (Табл.4).

Таблица 4.

Пренатальная диагностика в семьях с муковисцидозом в Республике Молдова

Nr.	Nr. семьи	Мать	Отец	Пробанд	Плод
1.	Д.06	ND/ +	R334X/+	R334X/ ND	ND/+
2.	В.95	F508del /+	F508del /+	умер	F508del /+
3.	Д.03	F508del /+	F508del /+	F508del/F508del	F508del /+
4.	Р.07	F508del /+	F508del /+	F508del/F508del	+ / +
5.	Г.08	F508del /+	F508del /+	F508del/F508del	F508del /+
6.	В.08	F508del /+	F508del /+	умер	F508del /+
7.	А.10	F508del /+	F508del /+	умер	+ / +
8.	М.11	F508del /+	185+1G>T/+	F508del/185+1G>T	F508del/185+1G>T
9.	П.11	F508del /+	G542X/+	F508del/ G542X	+ / +

ND– мутация не установлена

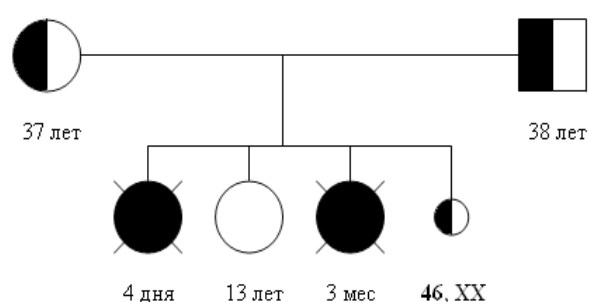
+ – нормальный аллель

В результате проведения исследования в семье В.95 установлено, что оба родителя являются гетерозиготными носителями мутации F508del (класс II). Пробанд не обследовался, т.к. к моменту обращения в Центр Репродуктивного здоровья и Медицинской генетики он уже умер в возрасте 9 месяцев. Исходя из данных анамнеза заболевания, можно предположить, что МВ у пробанда в этой семье был следствием мутации F508del в гомозиготном состоянии. При последующей беременности в данной семье, забор плодного материала осуществлялся в результате процедуры биопсии хориона на сроке 10 недель беременности. После исследования ДНК плода было установлено, что он является гетерозиготным носителем мутации F508del. Следовательно, наряду с патологической, он унаследовал у одного из родителей и здоровую хромосому. Родился здоровый ребенок, что подтверждено обследованием после рождения (Табл.4).

В семье Д.06 на базе клинических данных и биохимических исследований пробанду был выставлен диагноз МВ. В результате проведения молекулярно-генетического анализа в семье установлено, что ребенок унаследовал от отца мутацию R334X (класс IV). Идентифицировать мутацию, которую он унаследовал от матери, не удалось, ввиду ограниченных возможностей нашей лаборатории. Таким образом, при ПД, проведенной в 2006 г., шли по пути исключения наследования мутации R334X (только в 50% случаев было возможно дать точное заключение по диагностике). После проведения анализа было установлено, что плод не несет данную мутацию, следовательно, он является либо здоровым, либо гетерозиготным носителем мутации, унаследованной от матери. После рождения данные молекулярно-генетических исследований были подтверждены клиническими исследованиями.

Семьи Д.03 и Г.08 оказались полностью информативными (идентифицированы мутации, полученные от обоих родителей), что позволило использовать дородовую ДНК-диагностику. ДНК-диагностика, проведенная в данных семьях, позволила установить генотип больного – F508del/F508del и констатировать, что отец и мать ребенка являются гетерозиготными носителями мутации F508del. Забор плодного материала осуществлялся в результате процедуры амниоцентеза на сроке беременности 18 недель. После исследования ДНК плода было установлено, что он также является гетерозиготным носителем мутации F508del. Было выявлено, что у плода такой же генотип, как у родителей, следовательно, он будет здоровым носителем мутации F508del. В последующем в каждой из этих семей родился здоровый ребенок (Табл.4).

Родословная семьи В.08 представлена на рис.1. Особенность ПД в семье В.08 заключается в том, что родители обратились за помощью к врачу-генетику, когда женщина уже была беременна, а двое детей в семье уже умерли от МВ: мальчик в возрасте 4 дней и девочка в возрасте 3 месяцев. При жизни дети не были обследованы, диагноз был выставлен на основании патоморфологических исследований. Молекулярно-генетическими методами было установлено, что оба родителя являются гетерозиготными носителями мутации F508del, что позволило предположить, что у умерших детей мутация F508del была в гомозиготном состоянии, что и привело к ранней манифестации МВ и при отсутствии соответствующего лечения – к ранней смерти детей. Учитывая 100% информативность семьи и желание родителей иметь здорового ребенка, была предложена пренатальная ДНК-диагностика с целью предупреждения рождения больного МВ. Учитывая возраст беременной (37 лет), была проведена также пренатальная цитогенетическая диагностика с целью профилактики хромосомных aberrаций, риск которых увеличивается после 35 лет.



= ? ? ? = = 83 bp
80 bp

Рис 1. Фрагмент родословной семьи В.08 со схемой результатов ДНК-диагностики мутации F508del

является носителем мутации F508del, следовательно родится здоровый ребенок (Табл.4). Этот факт был подтвержден клиническими исследованиями, проведенными после рождения ребенка в этой семье.

В семье М.11 уже была больная МВ дочь с генотипом F508del/185+1G>T. Забор плодного материала осуществлялся в результате процедуры амниоцентеза на сроке беременности 18 недель. Исследование ДНК плода в нашей лаборатории установило наличие мутации F508del. На следующем этапе нашими коллегами из Франции была проведена пренатальная ДНК-диагностика. Установлен генотип плода F508del/185+1G>T (Табл.4). Беременность была прервана по желанию супругов в допустимые по закону сроки (до 22 недель).

В семье П.11 также была больная МВ дочь с генотипом F508del/ G542X. На первом этапе было проведено ДНК-тестирование плода в нашей лаборатории, которое выявило наличие мутации F508del. Дальнейшее исследование, проведенное нашими коллегами из Киева, показало, что плод – здоровый гетерозиготный носитель этой мутации (Табл.4). Учитывая возраст матери – 37 лет, параллельно проводилась цитогенетическая ПД. Результат кариотипа плода – 46,XY, нормальный мужской. В настоящее время у женщины беременность 29 недель, протекает физиологически, ожидается рождение здорового ребенка, что будет подтверждено клиническими исследованиями.

Таким образом, с помощью метода ПД в 9 семьях высокого генетического риска по МВ удалось предотвратить рождение больного ребенка. В последних двух случаях это стало возможным благодаря улучшению молекулярной диагностики МВ за счет расширения спектра тестируемых CFTR-мутаций.

В результате проведенных цитогенетических исследований (кариотип плода 46,XX – нормальный женский) была исключена хромосомная патология у плода. Молекулярно-генетические исследования показали, что у плода генотип F508del /+, что свидетельствует о том, что от родителей будущая дочь унаследовала лишь один аллель с мутацией F508del и фенотипически будет здорова. В семье родился здоровый ребенок.

В семье Р.07 генотип пробанда – F508del/F508del. Исследование ДНК плода показало, что он не

Выводы:

1. Как и в большинстве стран Европы наиболее частой в Молдове является мутация F508del, которая выявлена в 58,84% исследованных хромосом.
2. К диагностически значимым мутациям, приводящим к МВ в Молдове, помимо F508del, можно отнести мутации 2789+5G>A – 1,70 % G542X – 1,36 % , N1303K – 1,36 %, 2184insA – 1,36 %, W1282X – 0,68%, 3849+10kbC>T – 0,68%, 1898+1G>A – 0,68%, CFTRdel2,3 – 0,68%. Мутации 1248+1G>A, 1677delTA, R334W, 185+1G>T, 1898+1G>A, R553X, 621+1G>T и 296 + 1G>T являются редкими, так как их частота не превышает 0,34%.
3. У 71,4% обследованных нами пациентов с МВ тип мутации был идентифицирован, но только в 31,3% случаев были идентифицированы обе мутации гена CFTR. В 30,27 % случаев мутации гена CFTR остаются неидентифицированными.
4. Основной клинической формой МВ у больных в Молдове является смешанная форма (88,4%), лёгочная составляет 4,8%, а кишечная – 6,8%. По тяжести течения основной являлась тяжелая степень – 68,2%, средняя отмечена в 29,5%, лёгкая – в 2,3% случаев.
5. Установлена корреляция между мутациями в гене CFTR и клиническими формами МВ: у больных, имеющих две "тяжёлые" мутации преобладает смешанная форма (82,5%), кишечный синдром отмечен у 92,0% пациентов с таким генотипом; для больных с неидентифицированными мутациями характерна высокая доля лёгочной формы (70,0%).
6. Применение пренатальной ДНК-диагностики в «информативных» семьях высокого генетического риска МВ позволяет избежать рождения больного ребенка.

Библиография

1. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. (ред.). Муковисцидоз (современные достижения и актуальные проблемы): Методические рекомендации. М.; 2008.
2. Riordan J.M., Rommens J.M., Kerem B.S. et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245:1066-1073.
3. Петрова Н.В. Молекулярно-генетические и клинико-генотипические особенности муковисцидоза в Российских популяциях: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М.; 2009.
4. Гинтер Е.К., Капранов Н.И., Петрова Н.В. и др. Муковисцидоз. Достижения и проблемы на современном этапе. В кн.: Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. (ред.). X Юбилейный Национальный конгресс 1 – 2 июня 2011 года «Муковисцидоз у детей и взрослых». Ярославль. 2011: 9-14.
5. Castellani C., Cuppens H., Macek Jr. et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *Journal Cystic Fibrosis* 2008; 8: 179-196.
6. Тимковская Е.Е. Анализ ряда генов как возможных генов-модификаторов клинической картины муковисцидоза у больных из России: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2007.
7. Барбова Н.И., Гаврилук А.П., Егоров В.В. и др. Пренатальная диагностика муковисцидоза в Республике Молдова. В кн.: Матер. Национ. Конф. 21 ноября 2008 «Mucoviscidoza la copii». Кишинев. 2008: 16-21.
8. Barbova N., Egorov V. Studiul polimorfismului clinic și genotipic la pacienții cu mucoviscidoză din Republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei* 2008; 5 (19): 327-330.
9. Barbova N.I., Egorov V.V., Gavriluc A.P.. Phenotypic and genotypic peculiarities of cystic fibrosis in Republic of Moldova. *European Journal of Human Genetic, European Human Genetics Conference, Amsterdam* 2006; 14 (1):120.

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



Н.И. Капранов, 2011 год

Николай Иванович Капранов родился 5 января 1941 года в городе Моршанске Тамбовской области. В 1964 году окончил педиатрический факультет Второго Московского медицинского института имени Н.И.Пирогова.

Учась в институте в 1963 году женился, жена – Е.И.Капранова (Гринчук) училась в одной группе, закончила педиатрический факультет 2 МОЛГМИ им. Н.И.Пирогова с отличием. По собственному желанию вместе поехали работать в Якутию, работали много (ненормированный рабочий день), интересно, времени на досуг было мало, помнят, что

самая низкая температура зимой была однажды – 63°С. Работая в Усть-Алданском районе ЯАССР в качестве районного педиатра (с 1964 по 1967 год), Н.И.Капранов добился снижения детской смер-



Семья Капрановых. Слева направо: мать Е.В. Капранова, Николай Капранов, сестра Галина Капранова, отец И.П. Капранов

ности в районе в 2 раза. В 2010 году (через 40 с лишним лет) посетили родные места – больших перемен не отметили (вечная мерзлота, за исключением г. Якутска, где появились современные здания, гостиницы и практически все продукты, включая фрукты и промтовары, чего конечно не было раньше). Администрация Усть-Алданского района и МЗ Республики Саха (Якутия) наградили Н.И. Капранова и Е.И. Капранову почетными знаками и грамотами за вклад в практическое здравоохранение республики. О них написана глава в Республиканском историческом издании – Якутск 2010. В настоящее время Е.И. Капранова – к.м.н., доцент кафедры педиатрии 1 МГМУ им.И.М. Сеченова.

В 1967 году Н.И.Капранов поступил в аспирантуру Научно-исследовательского института педиатрии Академии медицинских наук СССР. В 1970 году защитил кандидатскую диссертацию, которая была отмечена Академией Медицинских Наук премией М.С.Маслова, а в 1987



Группа №5, педфак, 2-й МОЛГМИ, 1963 год. Слева направо: Е.И. Капранова, С.Г. Алексина, В. Исаченко, В.И. Крылов, Б. Семенихин, Н.И. Капранов, А. Гореликов

– успешно защитил докторскую диссертацию по проблемам муковисцидоза. Во время работы в пульмонологическом отделении НИИ педиатрии с 1976 по 1989 годы был включен в состав бригады консультантов Санавиации при МЗ СССР и неоднократно выезжал в качестве детского пульмонолога для оказания помощи в разные города России и союзных республик (Грузия, Азербайджан, Киргизия, Таджикистан, Казахстан).



Якутия, на улице – минус 63°C, 1966 год.
Работа после института с женой Е.И.Капрановой
и с Тузиком и Машкой на руках

По заданию МЗ СССР Н.И.Капранов работал в качестве педиатра в Сомали (1975 – 77 г.г.), Алжире (1980 – 82 г.г.), где проявил высокую квалификацию и профессионализм.

В 1990 году Н.И.Капранов был одним из организаторов создания и по настоящее время возглавляет Республиканский центр муковисцидоза на базе Российской детской клинической больницы Росздрава. С 2003 года на базе ДГКБ №13 им. Н.Ф.Филатова под его руководством организован Городской центр помощи больным муковисцидозом детям г. Москвы и Московской области. Одновременно Н.И.Капранов является руководителем научно-клинического отдела муковисцидоза Медико-генетического научного центра РАМН.

Н.И.Капранов явился инициатором создания сети региональных центров диагностики и лечения больных муковисцидозом. Регулярно выезжает в регионы России и страны СНГ для создания региональных и межрегиональных центров МВ и оказания научной, организационно-методической и консультативной помощи. Н.И.Капрановым опубликовано более 500 научных работ в отечественных и зарубежных журналах.

Наряду с плодотворной научной, учебной, организационно-методической и консультативной работой Н.И.Капранов ведет большую общественную деятельность в качестве члена Ученого совета Медико-генетического Научного Центра РАМН, руководителя рабочей группы «Муковисцидоз» секции «Пульмонология» Ученого Совета МЗ РФ, члена научного комитета МЗ РФ «Рациональная антибиотикотерапия», члена редколлегии медицинского журнала «Педиатрия».

Н.И.Капранов является членом Европейского научного комитета EWCCF, Евро-



С земляками - борогонскими медиками, 2010 год

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



На даче в г. Балабаново с женой и внучкой Лизой

За комплекс работ в области муковисцидоза Н.И.Капранов был отмечен премией Международного Фонда Сороса. В соответствии с Указом Президента РФ являлся государственным научным стипендиатом в 1994–2000 г.г. 13 июня 2002 года отмечен Дипломом Первой национальной премии «Лучшим врачам России – Призвание» в номинации «за создание нового метода лечения». 26.06.03 Н.И.Капранову было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Под его руководством подготовлены и защищены 19 кандидатских и 8 докторских диссертаций.



50-летие Н.И. Капранова (в РДКБ). Слева направо: С.В. Рачинский, выступает В.К. Таточенко, Н.И.Капранов, И.К. Волков. На переднем плане – Л.В. Передерко

пейского Общества по муковисцидозу (ECFS), Европейского Респираторного Общества (ERS). А в 2010 году возглавил Общероссийскую общественную организацию «Всероссийская ассоциация для больных муковисцидозом».



Сын А.Н. Капранов с внучкой Лизой, 2006 год

У Н.И.Капранова есть сын Анатолий, 1973 г.р. к.б.н. работает тренинг-менеджером в фармакологической компании «Мерк Шарп Доумн» и две внучки – Лиза, 2003 г.р., учащаяся второго класса, и только что появившаяся на свет Диана, 2012 г.р. ■

**Николаю Ивановичу
Капанову - 70 лет!
С юбилеем его поздравляют
алтайские врачи!**

Знакомы с Николаем Ивановичем мы давно, несколько раз встречались, и всегда это было приятно, так как это скромный, нешумный человек с хорошими манерами, но не манерный, без столичного высокомерия и с прекрасным, тонким чувством юмора.



Чурсин А.А., Сероклинов В.Н., Капанов Н.И., г. Барнаул, 1998 год

Запомнилось несколько интересных моментов из этих встреч.

В 1998 году Николай Иванович был в Барнауле, и ему показали несколько детей, диагноз «муковисцидоз» у которых вызывал сомнения, а с молекулярно-генетическим подтверждением тогда ещё были трудности. Так вот, профессор Капанов сидел в кабинете, и к нему по одному заводили детей, а Николай Иванович слегка принимался к запаху вошедшего. Когда пациент уходил, профессор говорил: «Это наш клиент!» или отрицал причастность к муковисцидозу. Если это не правда, согласитесь, всё равно красивая легенда!

А в сентябре 2008 года состоялась большая конференция муковисцидологов нашего Сибирского федерального округа, а также докторов из Удмуртии, Ярославля, Дальнего Востока. Было приятно общение со специалистами, которые непосредственно и конкретно занимаются диагностикой и лечением такого трудного контингента больных. Были очень интересные сообщения без лишних слов, как говорится, «без воды». Мы действительно узнали много нового, обмениваясь опытом. Не менее приятно и то, что конференция состоялась в уникальном месте, прямо на берегу Байкала, в посёлке Листвянка. Жили мы в классном отеле «Маяк» и в перерывах обозревали красоты Байкала со смотровой площадки. А на следующий день – экскурсия на теплоходе по Байкалу. И хотя накануне вечером было очень холодно (снег и ветер), утро следующего дня было тихим и солнечным.

Чистейшая вода, буруны и брызги, солнечные блики от воды, омуль горячего копчения и водка «Байкал» вызывали неописуемый восторг, а когда причалили в тихой бухте, просто нестерпимо захотелось искупаться в Байкале!

Но ведь 17 сентября, температура воды +6-10 градусов, все ходят одетые и собирают камушки на берегу. И тут кто-то сказал: «А Николай Иванович уже искупался!». Меня это зацепило, что же это я, сибиряк с хорошим подкожно-жировым слоем, не смогу сделать заплыв. И, благодаря Н.И. Капанову, я сделал два заплыва, испытав незабываемый кайф!

Что подтверждаю фотографией! Спасибо профессору Капанову, что мне в последнем припадке молодости удалось побывать и даже окунуться на Байкале!

Желаем Николаю Ивановичу здоровья, долгих лет жизни, творческих успехов и его желания встречаться с нами, простыми российскими врачами на необъятных просторах нашей Родины!

**Заведующий пульмонологическим отделением Алтайской краевой
клинической детской больницы Чурсин Алексей Александрович и
примкнувший к нему доцент кафедры педиатрии ФПК и ППС АГМУ
Сероклинов Валерий Николаевич**

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



Сотрудники клиники лечебного питания и руководство Нижегородского НИИ детской гастроэнтерологии (Успенская И.Д., вторая справа), Нижний Новгород, 2003 год

Дорогие Николай Иванович, Наталия Юрьевна и все члены команды Российского центра муковисцидоза!

Уже многие-многое годы мы идем по жизни вместе, учимся у Вас и советуемся с Вами, разделяя радости, удачи, горести так как это делают люди, объединенные не только профессиональными интересами, но и близкие по духу. А началось все с той, казалось бы случайной, встречи в РДКБ в период, когда Вы проводили работу с Саутгемптоном. Уже тогда поразили какая-то необыкновенная увлеченность, энтузиазм, доброжелательность всего коллектива и щедрость с которой Вы делились своими знаниями. Все это сохранилось и в последующие встречи. Но самое главное - пришла надежда на то, что можно переломить сложившуюся на тот момент фатальную ситуацию с муковисцидозом и возможна настоящая действенная помощь нашим больным детям. Неоценима, особенно в 90-годы, была оказываемая гуманитарная помощь. Огромное спасибо Вам всем. С благодарностью вспоминаем встречи с Николаем Ивановичем и Наталией Юрьевной в Нижнем Новгороде: блестящие лекции, консультации сложных больных. Благодаря Николаю Ивановичу состоялось наше знакомство с Жаном Фейжельсоном, который дважды посещал наш институт. Это были потрясающие встречи, оставившие неизгладимое впечатление.

В год 20-летия создания Российского центра муковисцидоза желаем всем сотрудникам научно-клинического отдела муковисцидоза МГНЦ РАМН, отделения медицинской генетики на базе РДКБ и поликлиники ДГКБ №13 им. Н.Ф. Филатова здоровья, творчества, дальнейших успехов в решении проблемы муковисцидоза, счастья, радости, гармонии в жизни.

Дорогой Николай Иванович, с юбилеем! Как бы пафосно это не звучало, но повстречать на своем пути и иметь возможность общаться с таким человеком как Вы - большой подарок судьбы. Пусть не покидает здоровье Вас и Ваших близких, пусть удача сопутствует во всех начинаниях, пусть каждый день будет добрым днем. С искренним уважением и любовью.

**Успенская Ирина Дмитриевна и коллектив Нижегородского центра
муковисцидоза на базе Нижегородского НИИ детской гастроэнтерологии**



Коллектив центра муковисцидоза г.Казани, 2003 год

Республиканский центр диагностики, лечения и реабилитации больных муковис-цидозом создан на базе ДРКБ МЗ РТ в 1993 году. На протяжении всех этих лет мы постоянно сотрудничали и продолжаем сотрудничать как с Российским центром муковисцидоза, как в рамках образовательных программ, так и направляя на консультацию, госпитализацию и лечение тяжелых трудно поддающихся терапии пациентов, диагностически непонятных.

Я помню, мы с Дилярой Сабировной впервые приехали в 1994 году на стажировку на рабочее место в отделение пульмонологии НИИ Педиатрии (ныне НЦ РАМН), тогда же впервые познакомились с работой Российского центра муковисцидоза, посетили отделение медицинской генетики на базе РДКБ.

В последние годы значительно изменилось понимание проблемы муковисцидоза среди медицинских работников и организаторов здравоохранения. Создана ассоциация родителей больных детей, которая совместно с Российским центром муковисцидоза проводит большую просветительскую, психологическую, правовую работу по разъяснению проблемы муковисцидоза и важности участия родителей в процессе лечения, реабилитации, адаптации к современным условиям жизни больных детей.

Скачок последнего десятилетия в оказании специализированной помощи больным муковисцидозом позволил увеличить продолжительность жизни, а программа неонатального скрининга выявлять больных муковисцидозом детей в первые месяцы жизни. Как результат этого, количество пациентов, состоящих на учете, резко увеличилось, а также увеличилось число пациентов старше 18 лет.

По нашему центру: на сегодня 81 пациент, 59 человек от 0 до 18 лет, и 22 пациента старше 18 лет. Но остается еще много нерешенных проблем, до сих пор полноценно не организована служба оказания медицинской помощи взрослым пациентам.

Мы думаем под Вашим чутким руководством мы сможем справиться и с этой задачей!

Д.С.Шагиахметова, О.В.Пятеркина, г. Казань

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



Калинина Ю.Э. (слева), Заря, 2009 год

Пульмонологический центр г. Тулы, занимающийся проблемами муковисцидоза в нашем регионе, в течение последних 19 лет тесно сотрудничает с Российским центром муковисцидоза во главе с уважаемым и любимым всеми в нашем регионе Н.И. Капрановым. За последние 12 лет проведены 4 конференции с участием научных сотрудников центра.

Благодаря такому тесному сотрудничеству практически все врачи не только детской сети, но и взрослой, а также работники МСЭК прониклись к проблемам пациентов, страдающих муковисцидозом. Благодаря постоянным встречам, участиям в работе конгрессов, симпозиумов мы постоянно находимся в курсе всех новых веяний в плане диагностики, лечения данной проблемы. Большое спасибо всем сотрудникам центра, работникам отделения муковисцидоза за постоянно оказываемую помощь в диагностике, лечении пациентов, обучению новым методикам.

Очень ценим вашу открытость, коммуникабельность, простоту в общении, отсутствие чванливости, что так важно в наше время. Благодаря участию Николая Ивановича мы стали ближе сотрудничать с фармацевтическими компаниями, а это дало нашим пациентам очень много.

Наше отделение получило благодаря фирме Хоффманн-Ля Рош 10 небулайзеров фирмы "Пари", а также небулайзер "Пари - Синус", "Макродакт". Все вновь взятые на учет больные муковисцидозом обеспечены компрессорными небулайзерами. В нашем центре имеются положительные моменты, особенно в последние 10 лет: увеличилась продолжительность жизни пациентов, 8 пациентов переведены во взрослую сеть, особенно в последние 5 лет. К сожалению, в 2009 г. взрослый пациент в возрасте 22 лет умер. Одна пациентка в возрасте 31 года имеет 2-х детей.

Наряду с позитивными моментами имеются и негативные, в частности, это касается медикаментозного обеспечения, в особенности антибиотиками для парентерального введения. Ранее по линии департамента здравоохранения Тульской области выделялась достаточная сумма денег для обеспечения препаратами, не входящими в список ДЛО; в 2010 г. пациенты были лишь обеспечены медикаментами на 1 квартал. К сожалению, в Тульской области нет медицинской ассоциации родителей, которые могли бы решить часть трудноразрешимых проблем.

Тем не менее мы стараемся делать все на современном уровне, за это огромное спасибо всем сотрудникам российского центра муковисцидоза, сотрудникам отделения медицинской генетики РДКБ и особенно "пионеру" данной проблемы - уважаемому Николаю Ивановичу Капранову.

Калинина Юлия Эриховна

21 ноября 2008 в г.Кишинёв состоялась Научно-Практическая Национальная Конференция с Международным участием «Муковисцидоз у детей». Почётный гость из России, Николай Иванович Капранов, Руководитель Российского центра муковисцидоза, Заслуженный деятель науки, доктор



С гостями из Молдовы и Армении, Заря, 2009 год

медицинских наук, профессор, в своём докладе „МУКОВИСЦИДОЗ – национальная приоритетная программа в России“ представил положительные результаты внедрения неонатального скрининга с 2006, который в последующем стал приоритетной национальной программой.

Профессор Н. Капранов консультировал детей с муковисцидозом из Молдовы, предлагая ценные рекомендации по ведению этих больных.

Часть пациентов знают профессора Капранова Н.И. В поисках помощи родители детей больных муковисцидозом доезжали до Москвы и обращались с личной просьбой к проф. Капранову, который в свою очередь никогда не отказывал в предоставлении медикаментов (Креон, Пульмозим) и проведении консультаций.

Многие родители являются активными пользователями Интернет-сайта www.mucoviscidos.ru, где получают ответы от доктора Наталии Каширской на самые сложные вопросы.

В период с 15.06.2009 по 10.07.2009 доктор Турку Оксана была на стажировке в НКО муковисцидоза МГНЦ РАМН (г. Москва). Все члены рабочей группы «Муковисцидоз» во главе с проф. Н.И Капрановым активно принимали участие в повышении квалификации доктора О. Турку в менеджменте пациентов с муковисцидозом.

За это время она ознакомилась с системой активного диспансерного наблюдения детей, больных муковисцидозом; протоколами ведения и стандартами лечения больных данного контингента, национальной программой неонатального скрининга муковисцидоза, методиками потового теста (Макродакт, Нанодакт), ДНК анализа на ряд мажёрных мутаций гена муковисцидоза, а так же с современными методами кинезитерапии (IPV, The Vest и др.)

Мы глубоко благодарны рабочей группе «Муковисцидоз» из России, во главе с проф. Н.И. Капрановым, в помощи детям больных муковисцидозом из Молдовы.

С уважением Светлана Щука, Кишинев

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



Рачинский С.В., Жан Фейжельсон, Таточенко В.К., 1990г.



Выступление на конгрессе, Белек, 2007 год



Школа муковисцидоза, Владимир, 2005 год



Кафедра педиатрии, Казахстан, 2009 год



Капустина Т.Ю., Радионович А.М., 2003 год



Школа муковисцидоза, Новосибирск, 2005 год

**Создателю отечественной школы
диагностики, лечения и профилактики
муковисцидоза профессору, д. м. н.
Николаю Ивановичу Капанову**

*Ах, вы, годы славные!
Вроде и недавно бы
Покидал Тамбовщину:
"Всё, Моршанск! Прощай!"
Лекции московские,
Звёздочки Кремлёвские ...
Ждёт врача в Якутии
Усть-Алданский край.*

*Молодость счастливая ...
До чего ж красивая
Женечка любимая!
Сын, работы воз ...
Вновь Москва державная,
Где наука - славное,
Дело жизни главное –
муковисцидоз.*

*В этом направлении
Ваши устремления
просто удивительны,
Видит даже Бог:*

*Школа диагностики
И леченья (просто ли?),
Школа профилактики –
всем трудам итог!*

*Где бы ни трудились Вы,
В Сомали, в Алжире ли,
Всюду утверждали Вы
творческий подход.*

*Всех пленяют качества –
Доброта, порядочность,
Потому и тянется
всюду к Вам народ.*

*Ваши достижения –
Это, без сомнения,
Не предел горения –
В новое прицел.*

*Дай Вам, Бог, и далее
Новых сил, дерзания!
Счастья в жизни, радости,
новых славных дел!*

Владимир Тяттин

*А дни, словно кони лихие, летят.
Всё дальше от нас босоногое детство.
Несёшься по жизни, посмотришь назад –
А осень с тобою уже по-соседству.
Настала пора удивляться душе:
Когда ж ты пришла, юбилейная веха?
Казалось, был юным вчера, а уже
Так много кругов вокруг солнца проехал!*

*А дни улетают стремительно вдаль,
И годы нас кружат, как ветер снежинки.
И всё-таки сердцу нисколько не жаль
Ни дня, ни полдня, ни его четвертинки!*

*Ведь всё, что промчалось, – всё было не зря,
Так много хорошего жизнь подарила!
Так пусть же спешит за зарёю заря –
Ещё жажда жизни в душе не остыла.
Ещё впереди самый яркий рассвет,
Ещё впереди дел прекрасных стремнина,
И радость, и счастье стремительных лет,
И самая главная в жизни вершина!*

Владимир Тяттин



60-летие Н.И.Капанова. Выступает А.Г. Чучалин, 2001г



Из Москвы в Саутгемптон через Ла Манш, 1993 год



Из Москвы в Саутгемптон через Ла Манш, 1993 год



Встреча на английском берегу, 1993 год



Дорога в Воронеж. Ж. Фейжельсон, С.Арутюнян, Л.Романо, 2005 год



С Кирсановой А.С., г. Архангельск, 1995г.

70-ЛЕТНИЙ ЮБИЛЕЙ Н.И. КАПРАНОВА



Смирнова Е.Ю., Шабалова Л.А., Воронкова А.Ю., Каширская Н.Ю., Агеева Н.И. РДКБ, 1993г.



Выступление на Королевском медицинском обществе, Лондон, 1996г.



Пухальская Д.А., Кокаровцева С., Калашникова Е.А., Пухальский А.Л., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., 2000г.



Пятова С., Лубская Т.В., 2000г.



На вручении первой национальной премии лучшим врачам России «Призвание», 2002г.



Гинтер Е.К., Иванов В.И., Капранов Н.И., 2001г.

10 марта 2011 года

**Уважаемому Николай Ивановичу,
Российскому центру муковисцидоза
посвящается!**

*Вам сегодня СЕМЬ-ДЕСЯТ –
В жизни вашей срок немалый!
Вы, как прежде, нарасхват, –
Человек во всем бывалый!*

*С педиатра в Усть-Алданске
Вы пошли путем тернистым,
Успевать пришлось везде,
Чтобы стать специалистом!*

*На Якутской на земле,
И в НИИ Педиатрии
Создавали вы себе
Ух, какие перспективы!*

*Пронесли по жизни всей
Цель и смысл своей работы,
Центр муковисцидоза - ваш итог
Сквозь тревоги и заботы.*

*Что там годы, не беда!
Вы такой же, как и прежде –
Обходительный всегда,
И вселяющий надежды!*

*Поздравляем Вас сейчас
С Вашим славным юбилеем!
Вы всегда пример для нас,
И душой пусть не стареем!*

*Сегодня в Вашем центре торжество:
Вот 20 лет, и это лишь начало!..
Он стал для всех детишек, матерей, отцов
Проверенным надежным их причалом.*

*И знают люди - это неспроста,
Что отличает коллектив ваш славный?
Старанье, мастерство плюс доброта,
Готовность воплощать любые планы.*

*Ну, взять хоть бы Ваш надежный тыл:
Наталия, Виктория, Татьяна, Анна!
Известно им: как много надо сил
Для получения позитивных данных!*

*По всей России спорятся дела,
И центры открываться продолжают.
Вам помощь надо? – тянется рука,
Москва, и Питер, и Самара помогают!*

*Уж 10 лет, как наш конгресс
Врачей российских собирает...
Давайте же друзья вот здесь
Друг другу творческих успехов пожелаем!*

*Пусть будет искорка в судьбе,
Пусть сердце молодеет год от года,
Пусть бог поможет нам в труде
Служенью своему народу!*

*Идти вперед, не ведая преград,
В свою работу вкладывая душу.
Пусть грянет юбилейное УРА!
Мы верим... знаем: центр наш - самый лучший!*

*Оксана Пятёркина от Республиканского
центра муковисцидоза РТ, г.Казань*



Блистинова З.А., Шелкова А.Н., Каширская Н.Ю., Амстердам, 2001г.



Национальный Конгресс по муковисцидозу, Воронеж, 2005



Гембицкая Т.Е., Джон Додж, г. Валенсия, 2010 год



Ереван, 2005 год



Пятёркина О.В., Шагиахметова Д.С., Волков И.К., г.Казань, 2003 год



Школа муковисцидоза, Байкал, 2008 год

**Научно-клинический отдел
муковисцидоза
ФГБУ МГНЦ РАМН**

**Российский центр диагностики
и лечения муковисцидоза**

**115478, Москва, ул. Москворечье д. 1
E-Mail: russia-cf@mail.ru
Интернет-сайт: www.mucoviscidos.ru, www.cf-rf.ru**

Москва, 2012