

3. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Шабалова Л.А., Блистинова З.А. Опыт совершенствования терапии и реабилитации больных муковисцидозом. В кн.: Современные проблемы стационарной помощи детям: Материалы научн.-практ. конференции, посвящ. 15-летию РДКБ. М.; 2000. 182—183.
4. Муковисцидоз (информ. бюл.) / Осипова И.А., Воронкова О.Ю., Капранов Н.И. и др. М.: Мед. практика; 2000. 5.
5. Муковисцидоз (клиника, диагностика, лечение, диспансеризация): Метод. рекомендации / Орлов А.В., Салова Н.Н., Алферов В.П. и др. СПб; 1997. 3.
6. Симонова О.И., Волкова Е.П., Капранов Н.И. и др. Психологические особенности у детей с муковисцидозом. Дет. доктор 1999; 5: 24—28.
7. Cystic fibrosis. Second ed. / Ed. M.E.Hodson, D.M.Geddes. London: Arnold; 2000. 2—23.

Поступила 25.06.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК [616.24-003.4-004]-07:616.23-018.7-092

Е.Н.Миткина, Т.Е.Гембицкая, Л.А.Желенина, А.Г.Черменский, А.В.Орлов, Е.К.Доценко

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭПИТЕЛИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

НИИ пульмонологии Санкт-Петербургского государственного университета им. акад. И.П.Павлова

BIOELECTRIC PROPERTIES OF RESPIRATORY EPITHELIUM IN CYSTIC FIBROSIS PATIENTS

E.N.Mitkina, T.E.Gembitskaya, L.A.Zhelenina, A.G.Chermensky, A.V.Orlov, E.K.Dotsenko

Summary

Cystic fibrosis (CF) is characterized by disorders of chloride secretion and sodium absorption in exocrine epithelium. A crucial location of these ion disorders is the respiratory epithelium. Such ion pathology forms a transepithelial electric potential difference. It is hard to measure tracheobronchial electric potential difference, so a method for measuring nasal potential difference (NPD) was created.

We measured baseline values of NPD in 100 patients (including 45 CF patients) and in 15 healthy volunteers. More significant negative values of the average baseline NPD were registered in the CF patients (42.2 ± 1.4 mV) compared with healthy and COPD persons (-18.3 ± 1.8 and 19.2 ± 0.6 mV accordingly, $p < 0.0001$). NPD values in 6 (13%) CF patients with typical clinical features, normal or boundary sweat test results and CF gene confirmation were compatible with CF bioelectric profile. Meantime 3 COPD patients had increased sweat test results and a low NPD level.

Under amiloride hydrochloride blocking sodium channels the basal NPD was inhibited greatly (up to 66%) in CF patients, whereas the same value in COPD patients was 36.7%. Therefore, the NPD reflects the principal CF disorder. Its increase under the amiloride influence more than 60% is thought to be used as an additional diagnostic test.

Резюме

Муковисцидоз (МВ) характеризуется нарушением секреции ионов хлора и абсорбции ионов натрия в эпителии экзокринных желез. Критическим местом, где реализуются эти нарушения, является респираторный эпителий. Снижение секреции ионов хлора и гиперабсорбция ионов натрия формируют трансэпителиальную разность электрических потенциалов. Измерение трахеобронхиальной разности электрических потенциалов сопряжено с рядом трудностей, поэтому был разработан метод измерения разности назальных потенциалов (РНП).

Нами были измерены базальные величины РНП у 100 больных, из которых 45 болели МВ, а также у 15 здоровых добровольцев. Средние базальные величины РНП у больных МВ имели более выраженные отрицательные значения, чем у здоровых лиц и у больных ХНЗЛ ($-18,3 \pm 1,8$ и $19,2 \pm 0,6$ мВ соответственно, $p < 0,0001$), и составили $-42,2 \pm 1,4$ мВ. У 6 (13%) больных, имеющих типичную клинику МВ и нормальные или пограничные значения хлоридов пота, РНП была сравнима с «биоэлектрическим профилем», характерным для МВ. Позже диагноз МВ у них был подтвержден генетически. В то же время у 3 больных ХНЗЛ с повышенными значениями хлоридов потовой жидкости РНП была низкой.

Под действием амилорида гидрохлорида, блокирующего натриевые каналы, наблюдалось значительная ингибция (на 66%) базальной РНП у больных МВ, в то время как у больных ХНЗЛ — только на 36,7%. Таким образом, РНП отражает основной дефект МВ. Повышение РНП под влиянием блокатора натриевых каналов амилорида более чем на 60% может использоваться в качестве дополнительного диагностического теста.

Муковисцидоз (МВ) характеризуется нарушением ионного транспорта в эпителии экзокринных желез организма, причиной которого являются мутации гена МВ, приводящие к изменению структуры и функции трансмембранного регуляторного белка МВ (ТРБМ), локализующегося в апикальной части мембраны эпителиальных клеток, выстилающих выводные протоки поджелудочной железы, кишечника, бронхолегочной системы, урогенитального тракта.

Благодаря современным методам с использованием микроэлектродов, клампирования клеточных мембран и др., позволяющим изучать ионные каналы в действии, сейчас уже хорошо известно, что проницаемость апикальной мембраны для ионов хлора Cl^- при МВ составляет 1/15 от нормальной, в то время как проницаемость для ионов натрия Na^+ увеличена почти в 4 раза, а отношение сопротивлений апикальной и базолатеральной мембран в 2 раза оказывается выше, чем в здоровых клетках, и подтверждает положение о преимущественных нарушениях ионного транспорта в апикальной мембране клеток экзокринных органов (рис.1) [2,8].

Также уже доказано существование по крайней мере двух видов альтернативных хлорных каналов, которые наряду с ТРБМ осуществляют секрецию ионов хлора Cl^- и не являются цАМФ-зависимыми. Взаимное влияние этих каналов является сложным и находится в процессе изучения.

Респираторный эпителий при МВ является критическим местом, где реализуются вышеупомянутые процессы нарушения ионного транспорта.

Измененная секреция ионов хлора Cl^- и гиперабсорбция ионов натрия Na^+ в респираторном эпителии приводит к изменению электролитного состава секрета и к дегидратации и его сгущению, нарушению мукоцилиарного клиренса, рецидивирующему инфицированию дыхательных путей, деструкции бронхов и эластической стромы легких, к прогрессирующему снижению вентиляционной функции легких [5].

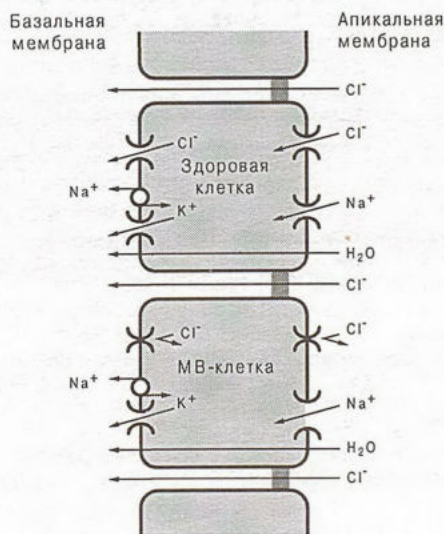


Рис.1. Механизмы секреции и абсорбции в эпителии дыхательных путей в норме и при муковисцидозе.

Отсутствие или снижение цАМФ-зависимой секреции ионов хлора Cl^- и гиперабсорбция ионов Na^+ является электрогенным процессом и формирует трансэпителиальную разность электрических потенциалов, являющуюся измеряемым параметром. Изменение биоэлектrogenеза в эпителии дыхательных путей можно определить на поверхности слизистой носа, так как измерение непосредственно трахеобронхиальной разности электрических потенциалов сопряжено с рядом трудностей (выполняется через бронхоскоп с использованием местной анестезии, без возможности выполнить повторное измерение, в условиях инфицированного секрета и др.) [3].

Впервые метод измерения разности назальных потенциалов (РНП) был предложен *M.R.Knowles* в 1981 г. Этот метод представляет собой измерение разности электрических потенциалов между относительным электродом в контакте с предплечьем, предварительно очищенным с помощью скраба, и измеряющим электродом на поверхности слизистой дна нижнего носового хода. Такая локализация была выбрана не случайно. В данном участке фиксируется максимальная РНП и определяются корреляции между величиной РНП и процентом реснитчатых клеток. *M.R.Knowles и соавт.* описали, что в этом месте носовой полости слизистая содержала до 78% цилиарных клеток, в то время как на медиальной поверхности нижнего носового хода часто имеется кубоидальная метаплазия и эпителий несет лишь 40—42% реснитчатых клеток [1,6].

Нами впервые на российской популяции были измерены базальные величины РНП с помощью этого метода в модификации *E.W.F.W.Alton (E.W.F.W.Alton и соавт. [2,1] Eur. Respir. J. 1990; 3: 922—926)*. Было обследовано 100 больных, из которых 45 были больны МВ, диагноз был подтвержден клиническим, генетическим исследованиями, неоднократным измерением хлоридов потовой жидкости, у 55 больных диагностированы хронические неспецифические заболевания легких — ХНЗЛ (хронический бронхит, бронхоэктатическая болезнь, бронхиальная астма, облитерирующий бронхолит), а также 15 здоровых волонтеров.

Нами записывалось стабильное, максимальное значение РНП, повторимый результат. Больные на момент

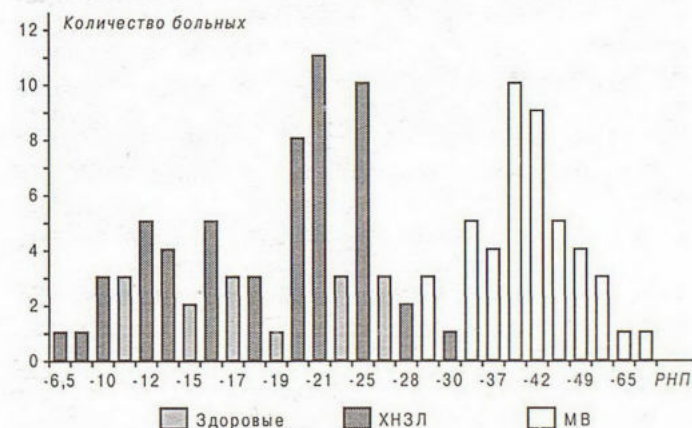


Рис.2. Базальные величины РНП в группах больных МВ, ХНЗЛ и здоровых лиц.

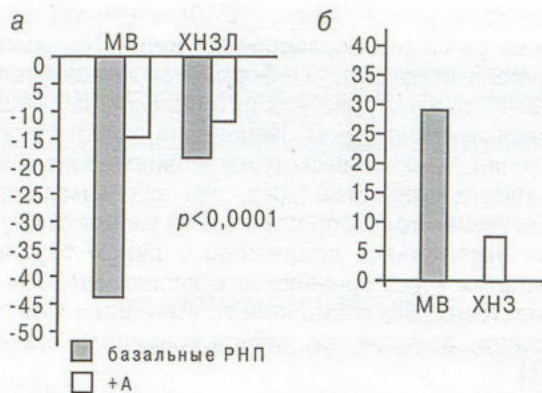


Рис.3. Изменения базальных величин РНП, вызванное перфузией (ингаляцией) 10^{-3} М раствора амилорида у больных ХНЗЛ и МВ ($p < 0,0001$).

а) абсолютный эффект; б) Δ РНП в исследуемых группах больных.

исследования были без признаков острой респираторной вирусной инфекции и травм носовой полости. Показания между значениями, полученными из правой и левой половин носа, не отличались более чем на 3,6 мВ. Исключение составили случаи, когда в носовой полости определялись полипы, а также в случаях обострения хронического гайморита, что снижало величины РНП. Ее показатели не зависели от получаемой больными терапии (бронхолитики, ингаляционные глюкокортикостероиды, ингаляционные антибактериальные препараты, муколитики). Не было получено и значительных различий в значениях РНП у мужчин и женщин, у исследуемых разного возраста во всех группах.

Средние базальные величины РНП у больных МВ имели более выраженные отрицательные значения, чем у здоровых и больных ХНЗЛ ($-18,3 \pm 1,8$ и $19,2 \pm 0,6$ мВ), соответственно и составили $-42,2 \pm 1,4$ мВ (от $-28,7$ до $-68,9$ мВ); $p = 0,0001$ (рис.2).

Заслуживает внимания тот факт, что у 6 (13%) больных с МВ, имеющих типичную клинику хронического воспалительного процесса в легких и недостаточности поджелудочной железы, хлориды пота имели нормальные или пограничные значения (от 24 до 62 ммоль/л), что затрудняло верификацию диагноза на начальном этапе. Значения РНП у этих больных были сравнимы с "биоэлектрическим профилем", характерным для МВ, от $-32,5$ до $-68,9$ мВ. После выполнения генетического исследования оказалось, что 1 больной был гомозиготой по $\Delta F508$, 4 больных имели в генотипе мутацию $\Delta F508$ в компаунде с 1366 Δ 5, 3849+10 kbC-T, unknown, 1 больной имел мутацию N1303K в компаунде с 2143 Δ T. В то же время у 3 больных ХНЗЛ (2 больных бронхиальной астмой и 1 больной бронхоэктатической болезнью) были зарегистрированы повышенные значения хлоридов потовой жидкости (66—74 ммоль/л), однако значения РНП у них были низкими ($-6,8$ до -22 мВ).

Нами также было оценено изменение величин РНП у больных МВ и сравнение с таковым у больных ХНЗЛ под действием блокатора натриевых каналов после

перфузии 10^{-3} М раствора амилорида гидрохлорида. После маневра с амилоридом наблюдалась значительная супрессия величин базальной РНП у больных МВ. Повышение величин РНП, обусловленное блокадой натриевых каналов, и как следствие гиперabsорбции ионов Na^+ , которая отвечает за формирование РНП, значительно отличалось от такового у больных ХНЗЛ. У больных МВ наблюдалась ингибция базальных величин на 66,6%, в то время как у больных ХНЗЛ этот эффект от действия амилорида был значительно ниже $-36,7\%$ (рис.3).

На сегодняшний день измерение хлоридов пота является основным, единственным практически доступным методом диагностики МВ. Но учитывая ситуации, когда хлориды пота имеют нормальные или пограничные значения у больных МВ, а также высокие величины у больных ХНЗЛ, возникает необходимость более чувствительных диагностических тестов. Трансэпителиальная разность электрических потенциалов, измеренная с поверхности слизистой носа, отражает основной дефект МВ, а также повышение величин РНП более чем на 60% под действием блокатора натриевых каналов амилорида, следовательно, они могут являться дополнительными методами диагностики МВ.

Более того, РНП является высокоэффективным методом мониторинга эффективности современных методов лечения МВ, как фармакологических — путем не только блокирования гиперabsорбции ионов натрия Na^+ , но и воздействуя на альтернативную секрецию ионов хлора Cl^- экстрацеллюлярными нуклеотидами (АТФ/УТФ), через вторичные внутриклеточные мессенджеры, так и в качестве "индекса коррекции" генной терапии, и модуляторов активности секреции ионов хлора Cl^- через ТРБМ, таких как ингибиторы III класса фосфодиэстераз, замещенных бензимидазолонов, и ряда других [4,7].

ЛИТЕРАТУРА

1. Миткина Е.Н., Гембицкая Т.Е., Фокина А.А. и др. Измерение разности назальных потенциалов — новый, информативный тест для диагностики муковисцидоза. Пульмонология 1999; 3: 48—51.
2. Орлов С.Н., Баранова И.А., Чучалин А.Г. Внутриклеточные системы сигнализации и патология легких. Транспорт ионов в клетках эпителия дыхательных путей. Там же. 1: 77—84.
3. Boucher R.C. Human airway ion transport. Part II. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994; 150: 581—593.
4. Boucher R.C. Status of gene therapy for cystic fibrosis lung disease. J. Clin. Invest. 1999; (103) 4: 441—445.
5. Davis P.B., Drumm M., Konstan M. Cystic fibrosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1996; 154: 1229—1256.
6. Knowles M.R., Carson J.L., Collier A.M. Measurements of nasal transepithelial electric potential differences in normal subjects *in vivo*. Am. Rev. Respir. Dis. 1981; 124: 484—490.
7. Knowles M.R., Olover K.N., Hohnaker R.W. et al. Pharmacologic treatment of abnormal ion transport in airway epithelium in cystic fibrosis. Chest. 1995; 107 (suppl.2): 71S—76S.
8. Quinton P.M. Cystic fibrosis: a disease in electrolyte transport. FASEB J. 1990; 4: 2709—2717.

Поступила 18.12.2000