

Функция ионных каналов эпителиальных клеток при муковисцидозе

Ю.Л. Мельяновская^{1,2} ✉, Е.И. Кондратьева^{1,2}, А.М. Будаева²

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: 115522, Россия, Москва, ул. Москворечье, 1

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»: 115093, Россия, Москва, ул. Большая Серпуховская, 62

Резюме

Муковисцидоз (МВ) — системное наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене *CFTR*, который регулирует транспорт электролитов (главным образом хлора) через мембраны эпителиальных клеток, выстилающих выводные протоки экзокринных желез. Нарушение функции белка *CFTR* приводит к снижению пассажа ионов хлора через мембраны клеток и нарушению пассажа ионов натрия, бикарбонат-ионов, воды. **Целью** исследования явилось комплексное изучение функционирования хлорного и альтернативных (натриевых и кальциевых) каналов эпителия у пациентов с МВ в возрастном аспекте с использованием функциональных тестов *in vitro*. **Материалы и методы.** Использованы данные историй болезни пациентов с МВ и метод определения разницы кишечных потенциалов. **Результаты.** Установлено, что с возрастом снижается функция кальциевого канала у людей без МВ и носителей «тяжелых» генотипов при МВ. Функция натриевого, хлорного, кальциевого каналов ниже во всех возрастных группах у пациентов с МВ по сравнению с таковой у лиц контрольной группы ($p < 0,05$). При сравнении групп пациентов с «тяжелым» и «мягким» генотипами выявлены статистически значимые различия в ответ на применение форсколина ($p < 0,05$), при «мягких» генотипах действует остаточная функция *CFTR*-канала, которая снижается с возрастом. **Заключение.** Впервые описаны особенности функционирования хлорного и альтернативных каналов в возрастном аспекте при МВ с учетом генотипа пациентов.

Ключевые слова: *CFTR*, муковисцидоз, определение разности кишечных потенциалов, ионные каналы.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на выполнение научно-исследовательских работ.

Этическая экспертиза. Исследование и форма информированного добровольного согласия были одобрены Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.10.18 (председатель Этического комитета — профессор Л.Ф.Курило).

© Мельяновская Ю.Л. и соавт., 2023

Для цитирования: Мельяновская Ю.Л., Кондратьева Е.И., Будаева А.М. Функция ионных каналов эпителиальных клеток при муковисцидозе. *Пульмонология*. 2023; 33 (2): 182–188. DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-2-182-188

Function of ion channels of epithelial cells in cystic fibrosis

Yulia L. Melyanovskaya^{1,2} ✉, Elena I. Kondratyeva^{1,2}, Ayuna M. Budaeva²

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation: ul. Moskvorechye 1, Moscow, 115522, Russia

² Moscow Region State Budgetary Healthcare Institution “Research Clinical Institute of Childhood, Ministry of Health of the Moscow Region”: ul. Bolshaya Serpukhovskaya 62, Moscow, 115093, Russia

Abstract

Cystic fibrosis is a systemic hereditary disease caused by mutations in the *CFTR* gene, which regulates the transport of electrolytes (mainly chloride) across the membranes of the epithelial cells that line excretory ducts of exocrine glands. Dysfunction of the *CFTR* protein reduces passage of chloride ions through cell membranes and disrupts the passage of sodium ions, bicarbonate ions, and water. **The aim** of the study was to analyze comprehensively functioning of chloride and alternative (sodium and calcium) channels in the epithelium of patients with cystic fibrosis in relation to the age using functional tests *in vitro*. **Methods.** We used data from medical histories of patients with cystic fibrosis and intestinal current measurements. **Results.** The function of the calcium channel decreased with age in people without cystic fibrosis and carriers of “severe” genotypes. The function of sodium, chloride, and calcium channels was lower in all age groups of patients with cystic fibrosis compared to controls ($p < 0.05$). When comparing groups of patients with “severe genotype” and “mild genotype”, statistically significant differences were found in response to forskolin ($p < 0.05$). Patients with “mild” genotypes had a residual function of the *CFTR* channel which decreased with age. **Conclusion.** For the first time, the functioning of chloride and alternative channels in cystic fibrosis have been described in relation to the age and the genotype of patients.

Key words: *CFTR*, cystic fibrosis, intestinal current measurement method, ion channels.

Conflict of interests. The authors did not declare any conflicts of interests.

Funding. The work was carried out under the state research task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Ethical review. The study and the informed voluntary consent form were approved by the Ethics Committee of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on October 15, 2018 (Professor L.F.Kurilo was Chairman of the Ethics Committee).
© Melyanovskaya Y.L. et al., 2023

For citation: Melyanovskaya Y.L., Kondratyeva E.I., Budaeva A.M. Function of ion channels of epithelial cells in cystic fibrosis. *Pul'monologiya*. 2023; 33 (2): 182–188 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2023-33-2-182-188

Ионные каналы представляют собой белки, связанные с мембраной пор, которые обеспечивают движение ионных потоков между внутриклеточной и внеклеточной жидкостями и внутриклеточными компартментами (митохондрии, хлоропласты, пероксисомы, лизосомы, эндоплазматический ретикулум, ядро клетки и аппарат Гольджи). Около 1,5 % генома человека кодирует > 400 ионных каналов. Кроме того, при гетеромеризации и альтернативном сплайсинге еще больше увеличивается функциональное разнообразие ионных каналов [1–3].

Большинство ионных каналов являются селективными, поскольку они могут различать электрический заряд и размер ионов и обеспечивать однонаправленное движение только определенного иона (в основном K^+ , Na^+ , Ca_2^+ или Cl^- и т. д.) через пору. При изменениях ионных потоков и, следовательно, вариации электрического заряда через мембраны контролируется практически каждое клеточное событие, включая сокращение, проводимость нейронов, секрецию, пролиферацию и гибель клеток. Следовательно, аномальные изменения ионных градиентов могут лежать в основе возрастного снижения физиологических функций. Кроме того, нарушение работы ионных каналов часто связано со снижением функции органов в процессе старения [4].

Муковисцидоз (МВ) – системное наследственное заболевание, обусловленное изменениями в гене *CFTR*, который регулирует транспорт электролитов (главным образом хлора) через мембраны эпителиальных клеток.

В настоящее время описаны > 2 000 генетических вариантов гена *CFTR* [5]. Генетические варианты I–III классов приводят к прекращению функции хлорного канала и относятся к «тяжелым» генетическим вариантам, тогда как при генетических вариантах IV–VI классов сохраняется остаточная функция хлорного канала, что позволяет объединить их в группу «мягких» генетических вариантов [5].

При нарушении функции белка *CFTR* снижается пассаж ионов хлора через мембраны клеток, при этом также нарушается пассаж ионов натрия, бикарбонат-ионов, воды. Происходит дегидратация апикальной поверхности секреторного эпителия и увеличение вязкости всех секретов, что является ключевым фактором в развитии патологического процесса в том или ином органе [5]. Таким образом, МВ является мультисистемным заболеванием, поражающим преимущественно дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт, поджелудочную железу, печень, а также ряд других органов (слюнные, потовые железы, репродуктивную систему), обусловленным универсальным повреждением мембран всех клеток организма.

Формирование и поддержание жидкостного пространства на апикальной поверхности эпителия имеет решающее значение для нормальной функции многих систем органов. К примеру, состояние слоя поверхностной жидкости, выстилающей дыхательные пути, жизненно важно для мукоцилиарного клиренса, как и образование водянистого щелочного секрета, обладающего благодаря ионам HCO_3^- высокой буферной емкостью, и необходимо для секреции пищеварительных ферментов поджелудочной железой и их доставки в просвет кишечника, а в кишечнике – поддержание соответствующего уровня просветной жидкости для пищеварения.

Исследование активной секреции хлора и вторичных посредников (*second-messenger pathways* – внутриклеточные сигнальные молекулы, высвобождаемые в ответ на стимуляцию рецепторов и вызывающие активацию первичных эффекторных белков) стало возможным, когда по данным исследования, смоделированного на биоптатах кишечника кроликов, помещенных в камеры Уссинга и стимулированных циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ) или агентами, которые увеличивают его клеточную активность, было установлено, что увеличенная секреция жидкости, вызванная кишечной инфекцией *Vibrio cholerae*, связана с активным процессом секреции хлора [6]. При этом перечислены основные принципы транспорта натрия и хлоридов [7], а в течение следующего десятилетия установлена их молекулярная идентичность. Повышение клеточного цАМФ, обусловленное многочисленными первичными агонистами (протеинкиназы А, ионы калия), вызывает секрецию анионов, стимулируя 3 основных транспортных процесса:

- апикальный анионный канал *CFTR*;
- базолатеральные К-каналы по крайней мере 2 типов (калиевые каналы внутреннего выпрямления, потенциал-зависимые калиевые каналы);
- базолатеральный канал, связанный с натрием процесс проникновения хлоридов *NKCC1 (Na/K/2Cl cotransporter-1)*.

Известно, что продолжительность жизни пациентов с МВ значительно ниже таковой в общей популяции. По данным национального регистра МВ, за 2020 г. средний возраст пациентов составил $13,7 \pm 9,7$ года, при этом доля взрослых составляет 26,5 % [8]. Заболевание рассматривается как модель ускоренного старения [9]. Исследование работы хлорного и альтернативных каналов (натриевого, кальциевого) позволит понять как степень нарушения работы хлорного канала, так и компенсаторные возможности альтернативных каналов. Изучение изменения работы каналов с возрастом при мутациях гена *CFTR*

не проводилось. Эти данные могут стать основой для разработки новых подходов к терапии заболевания с учетом возрастных особенностей.

Целью работы явилось комплексное исследование функционирования хлорного и альтернативных (натриевых и кальциевых) каналов кишечного эпителия в возрастном аспекте при различных вариантах гена *CFTR* с использованием функциональных тестов *in vitro*.

Материалы и методы

Обследованы пациенты с МВ ($n = 48$) с «тяжелым» (варианты I–II классов) ($n = 19$) и «мягким» (варианты IV–V классов) генотипами ($n = 11$). Контрольную группу составили здоровые добровольцы ($n = 18$). Средний возраст пациентов контрольной группы составил в 28,98 года, лиц с «тяжелым» генотипом – 14,15 года, с «мягким» генотипом – 16 лет.

Пациенты были распределены в 3 возрастные группы: 4–10, 11–18 и старше 18 лет.

Забор ректальных биоптатов проводился на оборудовании *Olympus Disposable EndoTherapy EndoJaw Biopsy forceps (model #FB-23OU)*. Исследование методом определения разницы кишечных потенциалов проводилось согласно европейским стандартным операционным процедурам V2.7_26.10.11 [10] по следующему алгоритму:

- на 1-м этапе проводилась калибровка каждой рециркуляционной камеры в отдельности на приборе VCC MC 8B421 *Physiologic Instrument* (Сан-Диего, США). Учитывались физические факторы, такие как наличие воздуха в контактных наконечниках с агаром и сопротивление жидкости, а также факторы окружающей среды: отсутствие вибраций вблизи оборудования, случайные контакты с электродами, отсутствие посторонних работающих приборов в кабинете;
- на 2-м этапе после калибровки прибора в камеру помещался ректальный биопсийный материал. Забор биоптатов проводился с использованием оборудования *Olympus Disposable EndoTherapy EndoJaw Biopsy forceps (model #FB-23OU)* согласно инструкции. Размер биоптата составлял 3–5 мм. Биопсийный материал помещался в специальный слайдер,

который далее вставлялся в камеру. Камеры заполнялись раствором буфера *Meyler*. Буфер готовился перед исследованием, в него входили 105 мМ NaCl, 4,7 мМ KCl, 1,3 мМ CaCl₂·6H₂O, 20,2 мМ NaHCO₃, 0,4 мМ NaH₂PO₄·H₂O, 0,3 мМ Na₂HPO₄, 1,0 мМ MgCl₂·6H₂O, 10 мМ HEPES и 10 мМ *D-glucose*, а также 0,01 мМ индометацина. Регистрация исследования начиналась с записи базального тока короткого замыкания ($\mu\text{A} / \text{cm}^2$) (стадия преамилорид);

- на 3-м этапе последовательно добавлялись следующие стимуляторы: амилорид (натриевый канал), форсколин / IBMX (хлорный канал), гинестеин (хлорный канал), карбахол (кальциевый канал), DIDS (анионный транспорт), в конце – гистамин (кальциевый канал).

Исследование завершалось после записи базального тока короткого замыкания. Группу контроля составили здоровые добровольцы, а пациенты с МВ, гомозиготные по F508del, – группу сравнения (F508del/F508del) [11].

Исследование проводилось специалистами научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (заведующая – профессор *Е.И. Кондратьева*).

Статистическая обработка проводилась с использованием программ *Excel Microsoft Office* и *Statistica 8.0*. Для оценки различий между выборками использовались критерий Краскела–Уоллиса, U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони; для признания различий достоверными принят уровень достоверности $p < 0,05$.

Результаты

По результатам анализа функционирования ионных каналов у пациентов контрольной группы показано, что функционирование натриевого и хлорного каналов с возрастом не изменяется, а функция кальциевого канала – снижается ($p < 0,05$). Вероятно, это связано со снижением проницаемости клеточных мембран в течение жизни (табл. 1).

Таблица 1
Функция ионных каналов у контрольной группы (здоровых) в зависимости от возраста; Me (Q1; Q3)

Table 1
Function of ion channels in the control group (healthy) depending on the age; Me (Q1; Q3)

Δ ISC, $\mu\text{A} / \text{cm}^2$	Амилорид (натриевый канал)	Форсколин (хлорный канал)	Гистамин (кальциевый канал)
Дети 4–10 лет (1-я группа; $n = 3$)	1,5 (1,5; 6,5)	27,0 (23,0; 30,0)	171,0 (154,0; 199,5)
Дети 11–18 лет (2-я группа; $n = 5$)	4,5 (2,8; 5,8)	28,0 (21,3; 31,0)	118,0 (85,8; 149,8)
Взрослые (3-я группа; $n = 10$)	3,0 (1,5; 11,0)	24,0 (11,0; 37,5)	100,8 (68,0; 124,0)
p	0,927	0,731	$p = 0,021$ $p_{1-2} = 0,257$ $p_{1-3} = 0,017$ $p_{2-3} = 0,916$

Таблица 2
Функция ионных каналов у пациентов с муковисцидозом с мутациями I–II класса («тяжелыми») в зависимости от возраста; Me (Q1; Q3)

Table 2
Function of ion channels in patients with cystic fibrosis with class I–II mutations (severe) depending on the age; Me (Q1; Q3)

Δ ISC, $\mu\text{A} / \text{cm}^2$	Амилорид (натриевый канал)	Форсколин (хлорный канал)	Гистамин (кальциевый канал)
Дети 4–10 лет (1-я группа; n = 9)	22,0 (9,3; 27,5)	1,5 (1,3; 2,5)	9,5 (7,3; 15,5)
Дети 11–18 лет (2-я группа; n = 5)	7,0 (6,8; 12,3)	2,5 (1,3; 3,8)	12,5 (9,0; 16,0)
Взрослые (3-я группа; n = 5)	8,0 (5,5; 12,3)	1,0 (0,5; 1,5)	3,5 (3,0; 6,5)
<i>p</i>	0,113	0,052	0,000
			$p_{1-2} = 0,903$
			$p_{1-3} = 0,001$
			$p_{2-3} < 0,001$

Таблица 3
Функция ионных каналов у пациентов с муковисцидозом с мутациями IV и V класса («мягкими») в зависимости от возраста; Me (Q1; Q3)

Table 3
Ion channel function in patients with cystic fibrosis with class IV and V (mild) mutations depending on the age; Me (Q1; Q3)

Δ ISC, $\mu\text{A} / \text{cm}^2$	Амилорид (натриевый канал)	Форсколин (хлорный канал)	Гистамин (кальциевый канал)
Дети 4–10 лет (1-я группа; n = 5)	9,0 (5,5; 23,8)	15,5 (13,5; 16,5)	13,5 (7,8; 23,3)
Дети 11–18 лет (2-я группа; n = 3)	7,0 (5,0; 12,5)	7,0 (5,0; 8,5)	12,0 (6,0; 16,5)
Взрослые (3-я группа; n = 3)	4,0 (3,0; 9,5)	8,0 (7,0; 14,0)	17,0 (11,0; 25,5)
<i>p</i>	0,152	0,017	0,192
		$p_{1-2} = 0,023$	
		$p_{1-3} = 0,164$	

По данным анализа функционирования ионных каналов у пациентов с МВ с «тяжелыми» генотипами показано, что функционирование натриевого и хлорного каналов не различается с возрастом, при этом функция кальциевого канала также снижалась ($p < 0,05$) (табл. 2).

По данным анализа функционирования ионных каналов у пациентов с МВ с «мягкими» генотипами показано, что функционирование натриевого и кальциевого каналов не изменяется с возрастом. Одновременно функция хлорного канала снижалась ($p < 0,05$) (табл. 3).

Установлено, что у пациентов с «мягкими» мутациями клинические показатели, такие как функция дыхания, снижаются с возрастом (табл. 4). Уровень панкреатической эластазы-1 (выделяется с калом и имеет важное диагностическое значение при оценке внешнесекреторной функции поджелудочной железы) в кале составлял > 200 нг / г, что является нормой и подтверждает сохранную функцию поджелудочной железы. Также у пациентов всех возрастных групп отмечено увеличение хронических синуситов с 40 % в 1-й группе до 66 % — в 3-й группе. Кроме того, у пациентов старше 18 лет выявлены аллергический бронхолегочный аспергиллез и легочные кровотечения. Также у пациентов с МВ в регистрах описано снижение функции легких и увеличение числа осложнений [8].

Таблица 4
Показатели функции внешнего дыхания пациентов с «мягкими» мутациями в возрастных группах ($M \pm m$)

Table 4
Parameters of respiratory function in patients with «mild» mutations in different age groups ($M \pm m$)

Группа	ФЖЕЛ, %	ОФВ ₁ , %
Дети 4–10 лет (1-я группа)	101,25 \pm 3,96	102,25 \pm 5,93
Дети 11–18 лет (2-я группа)	84,67 \pm 4,50	81,33 \pm 7,04
Взрослые (3-я группа)	84,00 \pm 9,90	61,30 \pm 7,36
<i>p</i>	$p_{1-2} < 0,05$	$p_{1-2} < 0,05$
	$p_{1-3} < 0,05$	$p_{1-3} < 0,05$

При сравнительном анализе показателей работы хлорного и кальциевого каналов у пациентов с МВ и контрольной группы разных возрастных групп (табл. 5) отмечены статистически значимые различия ($p < 0,001$). Также получены статистически значимые различия показателей работы натриевого канала у лиц контрольной группы и пациентов с МВ в возрасте 4–10 и 11–18 лет ($p < 0,002$) (см. табл. 5). Возможно, у лиц до 18 лет это имеет компенсаторный характер. В дальнейшем при взрослении эта компенсаторная реакция не наблюдается.

Таблица 5
Функционирование ионных каналов в зависимости от возраста; Δ ISC, $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

Table 5
Functioning of ion channels depending on the age; Δ ISC, $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

Группы	Амилорид (натриевый канал)	Форсколин (хлорный канал)	Гистамин (кальциевый канал)
4–10 лет			
Контроль	1,5 (1,5; 6,5)	27,0 (23,0; 30,0)	171,0 (154,0; 199,5)
МВ («тяжелая» + «мягкая» мутации)	18,0 (5,5; 27,5)	2,5 (1,5; 14,0)	10,5 (7,5; 16,0)
<i>p</i>	< 0,002	< 0,001	< 0,001
11–18 лет			
Контроль	4,5 (2,8; 5,8)	28,0 (21,3; 31,0)	118,0 (85,8; 149,8)
МВ («тяжелая» + «мягкая» мутации)	7,0 (6,0; 12,8)	4,5 (2,0; 6,5)	12,3 (7,5; 16,8)
<i>p</i>	< 0,002	< 0,001	< 0,001
Старше 18 лет			
Контроль	3,0 (1,5; 11,0)	24,0 (11,0; 37,5)	100,8 (68,0; 124,0)
МВ («тяжелая» + «мягкая» мутации)	7,5 (3,3; 11,5)	1,8 (1,0; 7,0)	6,8 (3,3; 14,0)
<i>p</i>	0,057	< 0,001	< 0,001

Таблица 6
Функционирование ионных каналов в зависимости от генотипа пациентов с муковисцидозом; Δ ISC, $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

Table 6
Functioning of ion channels depending on the genotype of patients with cystic fibrosis; Δ ISC, $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

Группы сравнения	Амилорид (натриевый канал)	Форсколин (хлорный канал)	Гистамин (кальциевый канал)
Здоровые лица (контроль) (1-я)	7,12 ± 9,92	26,67 ± 15,60	117,37 ± 59,94
«Тяжелый» генотип (2-я)	23,57 ± 3,61	2,83 ± 0,48	15,6 ± 2,9
«Мягкий» генотип (3-я)	4,83 ± 0,23	10,17 ± 2,34	26,08 ± 5,91
<i>p</i>	$p_{1-2} = 0,014$	$p_{1-2} < 0,001$	$p_{1-2} < 0,001$
	$p_{1-3} < 0,001$	$p_{1-3} < 0,001$	$p_{1-3} < 0,001$
	$p_{2-3} = 0,340$	$p_{2-3} = 0,016$	

Статистически значимые различия в работе всех каналов отмечены при сравнительном анализе функционирования каналов у пациентов групп контроля, пациентов с МВ с «тяжелыми» и «мягкими» генотипами (табл. 6). Работа хлорного канала достоверно различается в группе контроля и у пациентов с МВ между «тяжелыми» и «мягкими» генотипами, что подтверждает наличие сниженной функции канала CFTR у пациентов с «мягкими» генотипами и отсутствие функции — при «тяжелых» генотипах.

Обсуждение

Поскольку эволюционно ионные каналы представляют собой консервативные белки, а клетки всех живых существ используются для восприятия и адаптации к изменениям как внеклеточной, так и внутриклеточной среды, то это свидетельствует о том, что препараты, нацеленные на ионные каналы, могут быть перспективными для лечения старения [12]. Однако принимая во внимание тот факт, что к настоящему времени идентифицировано > 400 генов, кодирующих субъединицы ионных каналов, их роль в патогенезе многих заболеваний остается недостаточно изученной.

При МВ патология систем органов зависит от вклада функции CFTR в секрецию солей и воды по сравнению с активностью других путей. Его влияние на различные системы органов связано также с локусом экспрессии CFTR в ткани и последствиями его дефицита для развития заболевания. Например, считается, что всего лишь 20 % нарушения секреции Cl^- достаточно, чтобы вызвать обструктивную дегенерацию семявыносящего протока [13], что делает его развитие особенно чувствительным к экспрессии CFTR. Около 20 % нормально функционирующего белка CFTR уже приводит к недостаточности функции поджелудочной железы при МВ [13], при этом в потовых железах даже нарушение активности CFTR на 50 % не определяется как изменение показателей хлоридов пота, поэтому при нормализации активности канала при лечении таргетным препаратом относительно небольшая активность CFTR приводит к значительному снижению уровня хлоридов пота [13].

Среди более чем 2 000 зарегистрированных генетических вариантов и полиморфизмов в гене CFTR обнаружены широкие вариации функции CFTR, хотя в настоящее время полная замена мутантного гена нормальной копией невозможна, идентифицированы малые молекулы, способные модифицировать мутант-

ный белок CFTR таким образом, что его функция становится близкой к нормальной. Все более очевидно, что основным дефектом при МВ является транспорт анионов, что делает CFTR главной целью терапевтических разработок [14]. Поиск молекул, способных стимулировать синтез, транспорт или функции неполноценного белка CFTR представляется более перспективным. Возможность терапевтических мероприятий определяется классом мутации и в настоящее время является актуальной темой для обсуждения [15–17]. В 2012 г. для лечения МВ разработана молекула ивакафтор (первый потенциатор), которая меняет функцию хлорного канала и используется для патогенетической терапии заболевания, в дальнейшем разработаны и зарегистрированы еще 2 потенциатора и корректор. Восстановление функции хлорного канала является основой для увеличения продолжительности жизни. Коррекция снижения функции кальциевого канала с возрастом может быть перспективной как для терапии МВ у взрослых, так и пациентов без МВ (каналопатии центральной нервной системы — спиноцеребеллярная атаксия 6-го типа, семейная гемиплегическая мигрень). Разрабатываются также терапевтические подходы, направленные на увеличение активности натриевого канала.

Заключение

В работе впервые описаны особенности функционирования хлорного и альтернативных каналов в возрастном аспекте у здоровых добровольцев и при МВ. Показано, что с возрастом снижается функция кальциевого канала у лиц без МВ и носителей «тяжелых» генотипов. Установлено также, что функция натриевого, хлорного, кальциевого каналов снижается у пациентов с МВ в всех возрастных группах по сравнению с таковой у лиц контрольной группы ($p < 0,05$).

При сравнении пациентов с «тяжелым» и «мягким» генотипами МВ выявлены статистически значимые различия в ответ на применение форсколина ($p < 0,05$), что подтверждает остаточную функцию хлорную канала в группе пациентов с «мягким» генотипом, которая снижается с возрастом и определяет изменение клинической картины заболевания.

Литература

- Lee A., Fakler B., Kaczmarek L.K., Isom L.L. More than a pore: ion channel signaling complexes. *J. Neurosci.* 2014; 34 (46): 15159–15169. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3275-14.2014.
- Brueggemann L.I., Gentile S., Byron K.L. Social networking among voltage-activated potassium channels. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2013; 117: 269–302. DOI: 10.1016/B978-0-12-386931-9.00010-6.
- Hille B. Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches. *Biophys. J.* 1978; 22 (2): 283–294. DOI: 10.1016/S0006-3495(78)85489-7.
- Kass R.S. The channelopathies: novel insights into molecular and genetic mechanisms of human disease. *J. Clin. Invest.* 2005; 115 (8):1986–1989. DOI: 10.1172/JCI26011.
- Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Кондратьева Е.И., ред. Муковисцидоз. 2-е изд. М.: Медпрактика-М; 2021. Доступно на: www.medpraktika.ru/books/new/?id=316
- Kimberg D.V., Baerg R.D., Gershon E., Graudusius R.T. Effect of cortisone treatment on the active transport of calcium by the small

- intestine. *J. Clin. Invest.* 1971; 50 (6): 1309–1321. DOI: 10.1172/JCI106610.
- Frizzell R.A., Field M., Schultz S.G. Sodium-coupled chloride transport by epithelial tissues. *Am. J. Physiol.* 1979; 236 (1): F1–8. DOI: 10.1152/ajprenal.1979.236.1.F1.
- Кондратьева Е.И., Красовский С.А., Старинова М.А. и др., ред. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2020 год. М.: Медпрактика-М; 2022. Доступно на: https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf
- Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Алёшкин В.А. Иммунологические нарушения и когнитивный дефицит при стрессе и физиологическом старении. Часть I: Патогенез и факторы риска. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2014; 69 (5–6): 14–22. DOI: 10.15690/vrnm.v69i5-6.1038.
- Derichs N., Sanz J., Von Kanel T. et al. Intestinal current measurement for diagnostic classification of patients with questionable cystic fibrosis: validation and reference data. *Thorax.* 2010; 65 (7): 594–599. DOI: 10.1136/thx.2009.125088.
- Мельяновская Ю.Л., Кондратьева Е.И., Куцев С.И. Определение референтных значений для метода определения разности кишечных потенциалов в Российской Федерации. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020; 15 (2): 162–165. Доступно на: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-referentnyh-znacheniy-dlya-metoda-opredeleniya-raznosti-kishechnyh-potentsialov-v-rossiyskoy-federatsii/viewer>
- Rao V., Kaja S., Gentile S. Ion channels in aging and aging-related diseases. In: Shiomi, N., ed. *Molecular mechanisms of the aging process and rejuvenation.* London: IntechOpen; 2016. DOI: 10.5772/63951.
- Marcorelles P., Gillet D., Friocourt G. et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression in the male excretory duct system during development. *Hum. Pathol.* 2012; 43 (3): 390–397. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.04.031.
- Frizzell R.A., Hanrahan J.W. Physiology of epithelial chloride and fluid secretion. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 2 (6): a009563. DOI: 10.1101/cshperspect.a009563.
- Amaral M.D. Novel personalized therapies for cystic fibrosis: treating the basic defect in all patients. *J. Intern. Med.* 2015; 277 (2): 155–166. DOI: 10.1111/joim.12314.
- Mall M.A., Mayer-Hamblett N., Rowe S.M. Cystic fibrosis: emergence of highly effective targeted therapeutics and potential clinical implications. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020; 201 (10): 1193–1208. DOI: 10.1164/rccm.201910-1943SO.
- Fajac I., Wainwright C.E. New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis. *Presse Med.* 2017; 46 (6, Pt 2): e165–175. DOI: 10.1016/j.lpm.2017.01.024.

Поступила: 26.12.22
Принята к печати: 21.02.23

References

- Lee A., Fakler B., Kaczmarek L.K., Isom L.L. More than a pore: ion channel signaling complexes. *J. Neurosci.* 2014; 34 (46): 15159–15169. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3275-14.2014.
- Brueggemann L.I., Gentile S., Byron K.L. Social networking among voltage-activated potassium channels. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2013; 117: 269–302. DOI: 10.1016/B978-0-12-386931-9.00010-6.
- Hille B. Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches. *Biophys. J.* 1978; 22 (2): 283–294. DOI: 10.1016/S0006-3495(78)85489-7.
- Kass R.S. The channelopathies: novel insights into molecular and genetic mechanisms of human disease. *J. Clin. Invest.* 2005; 115 (8):1986–1989. DOI: 10.1172/JCI26011.
- Kashirskaia N.Yu., Kapranov N.I., Kondratyeva E.I., eds. [Cystic Fibrosis]. 2nd Edn. Moscow: Medpraktika-M; 2021. Available at: www.medpraktika.ru/books/new/?id=316 (in Russian).
- Kimberg D.V., Baerg R.D., Gershon E., Graudusius R.T. Effect of cortisone treatment on the active transport of calcium by the small intestine. *J. Clin. Invest.* 1971; 50 (6): 1309–1321. DOI: 10.1172/JCI106610.
- Frizzell R.A., Field M., Schultz S.G. Sodium-coupled chloride transport by epithelial tissues. *Am. J. Physiol.* 1979; 236 (1): F1–8. DOI: 10.1152/ajprenal.1979.236.1.F1.

8. Kondratyeva E.I., Krasovskiy S.A., Starinova M.A. et al., eds. [Russian Federation Cystic Fibrosis Patients Registry. 2020]. Moscow: Medpraktika-M; 2022. Available at: https://api.med-gen.ru/site/assets/files/51107/site_registre_2020.pdf (in Russian).
9. Pukhalsky A.L., Shmarina G.V., Alyoshkin V.A. [Immune dysfunction and cognitive deficit in stress and physiological aging. Part 1: pathogenesis and risk factors]. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2014; 69 (5–6): 14–22. DOI: 10.15690/vramn.v69i5-6.1038 (in Russian).
10. Derichs N., Sanz J., Von Kanel T. et al. Intestinal current measurement for diagnostic classification of patients with questionable cystic fibrosis: validation and reference data. *Thorax.* 2010; 65 (7): 594–599. DOI: 10.1136/thx.2009.125088.
11. Melyanovskaya Yu. L., Kondratyeva E. I., Kutsev S. I. [Determination of reference values for the method of intestinal current measurement in the Russian Federation]. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza.* 2020; 15 (2): 162–166. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-referentnykh-znacheniy-dlya-metoda-opredeleniya-raznositi-kishechnykh-potentsialov-v-rossiyskoy-federatsii/viewer> (in Russian).
12. Rao V., Kaja S., Gentile S. Ion channels in aging and aging-related diseases. In: Shiomu, N., ed. *Molecular mechanisms of the aging process and rejuvenation.* London: IntechOpen; 2016. DOI: 10.5772/63951.
13. Marcotelles P., Gillet D., Friocourt G. et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression in the male excretory duct system during development. *Hum. Pathol.* 2012; 43 (3): 390–397. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.04.031.
14. Frizzell R.A., Hanrahan J.W. Physiology of epithelial chloride and fluid secretion. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 2 (6): a009563. DOI: 10.1101/cshperspect.a009563.
15. Amaral M.D. Novel personalized therapies for cystic fibrosis: treating the basic defect in all patients. *J. Intern. Med.* 2015; 277 (2): 155–166. DOI: 10.1111/joim.12314.
16. Mall M.A., Mayer-Hamblett N., Rowe S.M. Cystic fibrosis: emergence of highly effective targeted therapeutics and potential clinical implications. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020; 201 (10): 1193–1208. DOI: 10.1164/rccm.201910-1943SO.
17. Fajac I., Wainwright C.E. New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis. *Presse Med.* 2017; 46 (6, Pt 2): e165–175. DOI: 10.1016/j.lpm.2017.01.024.

Received: December 26, 2022

Accepted for publication: February 21, 2023

Информация об авторах / Authors Information

Мельяновская Юлия Леонидовна — научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; научный сотрудник Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: melcat@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Yuliya L. Melyanovskaya, Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; Researcher, Moscow Region State Budgetary Healthcare Institution “Research Clinical Institute of Childhood”; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: melcat@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Кондратьева Елена Ивановна — д. м. н., профессор, руководитель научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; заместитель директора по науке

Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»; тел.: (495) 111-03-03; e-mail: elenafpk@mail.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>)
Elena I. Kondratyeva, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Scientific and Clinical Department of cystic fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; Deputy Director for Science, Moscow Region State Budgetary Healthcare Institution “Research Clinical Institute of Childhood, Ministry of Health of the Moscow Region”; tel.: (495) 111-03-03; e-mail: elenafpk@mail.ru (ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>)

Будаева Аюна Мункоевна — лаборант-исследователь Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»; тел.: (498) 699-53-10; e-mail: будаева@nikid.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2941-8411>)
Ayuna M. Budaeva, Research Laboratory Assistant, Moscow Region State Budgetary Healthcare Institution “Research Clinical Institute of Childhood, Ministry of Health of the Moscow Region”; tel.: (498) 699-53-10; e-mail: будаева@nikid.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2941-8411>)

Участие авторов

Мельяновская Ю.Л. — проведение экспериментов по определению разности кишечных потенциалов, анализ полученных результатов, оформление рисунков, написание рукописи.

Кондратьева Е.И. — идея, руководство на всех этапах выполнения работы, написание и редактирование рукописи.

Будаева А.М. — написание рукописи.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Authors Contribution

Melyanovskaya Yu.L. — conducting the determination of intestinal potential difference experiments, analyzing the results, creating the figures, writing the manuscript.

Kondratyeva E.I. — idea, guidance at all stages of the work, writing and editing the manuscript.

Budaeva A.M. — writing the manuscript.

All authors made a significant contribution to the search, analysis, and preparation of the article, read and approved the final version before publication, and accepted responsibility for the integrity of all parts of the article.