

*На правах рукописи*

Перетокина Елена Викторовна

**НЕФРОЛИТИАЗ ПРИ ПЕРВИЧНОМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗЕ: ОСОБЕННОСТИ  
ТЕЧЕНИЯ, ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ**

14.01.02- Эндокринология

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва -2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении  
«Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации (директор- академик РАН Дедов И.И.)

- Научный руководитель** Мокрышева Наталья Георгиевна  
Доктор медицинских наук
- Официальный оппоненты** Бирюкова Елена Валерьевна, доктор медицинских наук,  
профессор кафедры эндокринологии и диабетологии  
лечебного факультета ГБОУ ВПО «Московский  
государственный медико-стоматологический  
университет имени А. И. Евдокимова» Минздрава  
России
- Бритвин Тимур Альбертович, доктор медицинских наук,  
руководитель отделения хирургической эндокринологии  
ГБУЗ МО «Московский областной научно-  
исследовательский клинический институт имени В.Ф.  
Владимирского»
- Ведущее учреждение** ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный  
медицинский университет имени И.М. Сеченова»  
Минздрава России

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании  
диссертационного Совета Д 208.126.01 при ФГБУ «Эндокринологический научный центр»  
Минздрава России по адресу: 117036, Москва, ул Дмитрия Ульянова, д 11

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Эндокринологический научный  
центр» Минздрава России

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Суркова Елена Викторовна

### Актуальность проводимого исследования

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) является одной из актуальных проблем эндокринологии, что связано с мультисистемностью проявлений и его широкой распространенностью [Silverberg SJ et al., 2009; Walker MD et al., 2013; Bilezikian JP et al., 2000]. Поражение почек при ПГПТ приводит в конечном итоге к их необратимому повреждению и является фактором повышенного риска смерти [Borretta G et al., 2010; Hedback G et al., 1998; Беляева А.В., 2009]. Выявление почечных проявлений ПГПТ, таких как нефролитиаз (НЛ), снижение фильтрационной функции почек является абсолютным показанием к паратиреоидэктомии (ПТЭ) [Belizikian JP et al., 2014; Bilezikian JP et al., 2010]. На фоне ПГПТ риск развития нефролитиаза (НЛ) и снижения скорости клубочковой фильтрации возрастает в 3,7 и 6,5 раз соответственно [Мокрышева Н.Г., 2011] и риск развития камней почек сохраняется повышенным по сравнению с общей популяцией еще в течение следующих 10 лет после достижения ремиссии гиперпаратиреоза [Mollerup CL et al., 2002; Mollerup CL et al., 1998].

В результате увеличения частоты выявления мягкой формы, представления о клинической картине ПГПТ в последние несколько десятилетий существенно изменились [Bilezikian JP et al., 2000; Silverberg SJ et al., 2009; Crouzeix G et al., 2014; Starup-Linde J et al., 2012]. Для пациентов с мягкой формой все чаще используется консервативная тактика, вопрос о необходимости ПТЭ остается спорным [Langdahl BL et al., 2012; Marcocci C et al., 2009]. Между тем, как короткие наблюдения, так и отдаленные результаты показывают, что от 26% до 37% пациентов имеют прогрессирование заболевания, развитие костных и висцеральных осложнений, что обуславливает необходимость ПТЭ [Bollerslev J et al., 2007; Rao DS et al., 2004; Ambrogini E et al., 2007; Rubin MR et al., 2008; Bolland MJ et al., 2008; Silverberg SJ et al., 1999]. В то же время, по данным одного из наиболее крупных исследований мягкой формы ПГПТ (PEARS) наибольший риск развития имеет именно почечная патология, а риск возникновения НЛ и снижения СКФ с течением времени увеличивается в 5 и 19 раз соответственно [Yu N et al., 2011]

Механизм развития НЛ при ПГПТ не до конца понятен, а многофакторность развития конкрементов почек требует оценка целого комплекса параметров. На сегодняшний день в качестве прогностически неблагоприятных факторов развития НЛ рассматривались гиперкальциурия [Parks JH et al., 2009; Söreide JA et al., 1996; Frøkjær VG et al., 2002; Sorensen MD et al., 2012], уровень 25(OH) D и 1,25(OH)D [Cooperberg MR et al., 2007; Moosgaard B et al., 2007], уровень кальциемии и ПТГ [Corbetta S et al., 2005; Odvina CV et al., 2007; D'Angelo A et al., 1992], мужской пол и молодой возраст [Wu PI et al., 2010; Sneider MS et al., 2009; Parks JH et al., 2008], полиморфизмы *CASR* [Scillitani A et al., 2007; Pigarova E et al., 2012] и др., но единогласного мнения не получено, данных на российской популяции нет. Таким образом,

определение факторов риска развития НЛ при ПГПТ и особенностей нефролитиаза при этом заболевании являются актуальными, что и определило цель и задачи настоящей работы.

### **Цель исследования**

Изучить прогностическую значимость различных факторов риска развития нефролитиаза у больных первичным гиперпаратиреозом.

### **Задачи исследования**

1. Оценить роль различных факторов (пола, возраста, биохимических параметров крови и мочи, маркеров костного обмена и изменения МПК, почечной функции, роль метаболического синдрома) и их прогностическую значимость в развитии НЛ при ПГПТ.
2. Выявить различия в параметрах суточной мочи у больных НЛ на фоне ПГПТ в сравнении с пациентами с мочекаменной болезнью.
3. Оценить частоту полиморфизмов генов *VDR* и *CASR* и их влияние на риск развития НЛ у больных ПГПТ и у пациентов МКБ.
4. Выявить наличие взаимосвязи полиморфизмов *VDR* и *CASR* с клинико- лабораторными признаками ПГПТ и состоянием костной ткани.

### **Научная новизна**

Впервые в Российской Федерации на большой когорте пациентов с первичным гиперпаратиреозом проведена комплексная оценка основных факторов риска развития нефролитиаза, показателей биохимического и химического анализа суточной мочи на факторы риска камнеобразования, и изучена их прогностическая значимость. Проведена оценка роли генетических маркеров, участвующих в регуляции фосфорно-кальциевого обмена: уточнена роль полиморфизмов *CASR* в развитии нефролитиаза при ПГПТ, впервые было проведено изучение роли полиморфизмов *VDR* в возникновении нефролитиаза у больных ПГПТ. Выявлена ассоциация клинико-лабораторных проявлений ПГПТ с различными генотипами полиморфизмов *VDR*.

### **Практическая значимость**

Результаты выполненной работы позволили оценить вклад различных факторов риска в развитие нефролитиаза у больных с ПГПТ, выявить прогностически неблагоприятные показатели, что способствует оптимизации алгоритма обследования и ведения пациентов с мягкой формой ПГПТ. Продемонстрирована необходимость прицельного обследования почек у больных с ПГПТ в связи с высокой частотой асимптомного нефролитиаза, снижения функции

почек. Показано, что больные с ПГПТ и нефролитиазом по клиническому течению значимо не отличаются от больных мочекаменной болезнью, что подтверждает необходимость оценки уровня кальция и ПТГ у всех пациентов с уролитиазом.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. ПГПТ, сопровождающийся нефролитиазом, характеризуется более выраженным нарушением минерального обмена и костного метаболизма, снижением функции почек, чем при ПГПТ без НЛ.
2. Пациенты с ПГПТ при наличии нефролитиаза характеризуются дисбалансом концентрации промоторов и ингибиторов кристаллизации мочи.
3. Нефролитиаз на фоне ПГПТ в отличие от мочекаменной болезни характеризуется более выраженной гиперкальциурией и гипероксалатурией.
4. Предикторами развития нефролитиаза при ПГПТ являются: уровень кальциемии, гипероксалатурия и нарушение концентрационной функции почек.
5. Полиморфизмы *VDR* и *CASR* не взаимосвязаны с риском развития нефролитиаза у больных ПГПТ, но ассоциированы с тяжестью костных изменений и уровнем 25(OH)D.

### **Апробация результатов и публикации**

Официальная апробация диссертации состоялась 30 сентября 2015г на расширенной Межотделенческой научной конференции ФГБУ ЭНЦ МЗ РФ (протокол №10).

Результаты работы были представлены XII Съезде Российского общества урологов (Москва, 2012г); конгрессе «Современные подходы к лечению мочекаменной болезни в амбулаторной практике» (Москва, 2013г); II Научно-практической конференция «Фундаментальная и клиническая урология» (Москва, 2013г); конгрессе по остеопорозу и другим метаболическим заболеваниям скелета (Москва, 2013г); II Всероссийском конгрессе «Инновационные технологии в эндокринологии» с участием стран СНГ (Москва, 2014); международной научно-практической конференции «О некоторых вопросах современной медицины» (Челябинск, 2014); конгрессе Европейского общества по кальцификации тканей (ECTS, Прага, 2014); 16 и 17 Конгрессах Европейского общества эндокринологов (ESE, Вроцлав, 2014; Дублин 2015).

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ в отечественных рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых для опубликования результатов диссертаций, а так же тезисы, опубликованные в сборниках европейских и российских конференций.

## Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, описание материалов и методов, собственные результаты и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы из 103 источников (14 отечественных и 89 зарубежных). Работа иллюстрирована 39 таблицами и 26 рисунками.

## Материалы и методы исследования.

### Пациенты, включенные в исследование

Проведено одномоментное нерандомизированное сравнительное исследование. В работу включено 203 пациента с установленным ПГПТ, из которых у 135 выявлен НЛ и 68 без НЛ, 122 пациента без ПГПТ в качестве группы сравнения: 67 пациентов с МКБ и 55 практически здоровых лиц (Рисунок 1). Среди пациентов основной группы преобладала смешанная форма заболевания (n= 87), висцеральная форма с преимущественным поражением почек выявлена у 48 пациентов, костная форма у 38 человек, мягкая форма у 30 пациентов (Рисунок 2).

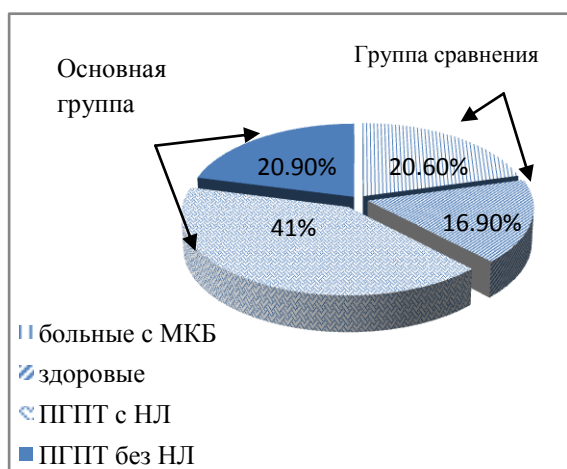


Рисунок 1. Исследуемые группы

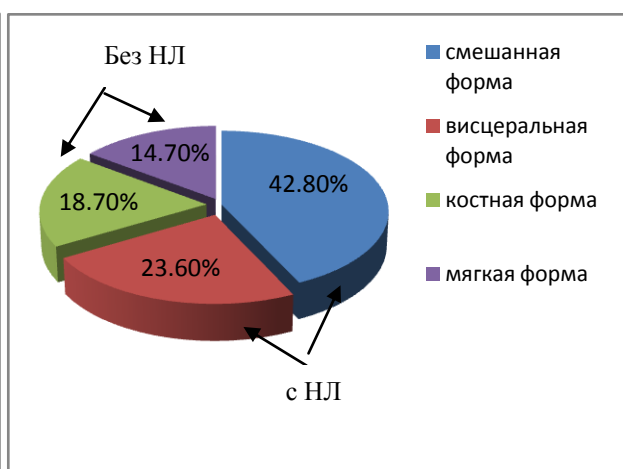


Рисунок 2. Состав группы с ПГПТ (по форме)

Критериями исключения из группы ПГПТ явились наличие синдромов МЭН 1 и 2 типа, наличие тяжелой хронической болезни почек (ХБП 4-5 ст) и печеночной недостаточности, единственной функционирующей почки, врожденных аномалий почек и мочевыводящих путей, онкологических и тяжелых соматических заболеваний.

Критериями исключения из группы сравнения являлось наличие тяжелых анатомических нарушений мочевыводящих путей, подагры, тяжелой хронической болезни почек (ХБП 4-5 ст) и печеночной недостаточности, единственной функционирующей почки, онкологических и тяжелых соматических заболеваний.

### *Лабораторные методы*

Все больные были обследованы по следующему плану: общеклинические методы, которые включали в себя сбор жалоб, анамнеза, физикальный осмотр, оценку антропометрических данных, оценку диуреза.

Исследование биохимических показателей крови (определение показателей кальций-фосфорного, липидного, углеводного обмена, креатинина, мочевины, электролитов, осмоляльности), осмоляльности утренней мочи с расчетом индекса осмоляльности, интактной молекулы ПТГ, 25(ОН)D (в период с сентября до начала апреля), маркеров костного обмена на базе лаборатории клинической биохимии ФГБУ ЭНЦ (зав. лабораторией А.В. Ильин).

Оценка фильтрационной функции почек осуществлялась на основании расчета скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с помощью математической модели MDRD. Оценка концентрационной функции проводилась с расчета индекса осмоляльности (соотношение осмоляльности утренней мочи и плазмы крови).

Оценка биохимических параметров суточной мочи (экскреция кальция, фосфора, натрия, калия, хлоридов, магния, мочевой кислоты) проводилась иммуноферментным методом на базе лаборатории клинической биохимии (зав лабораторией А.В. Ильин), исследование уровня оксалатов в суточной моче титриметрическим методом с перманганатом калия и определение органических (цитрат) и неорганических (сульфат) анионов в моче методом ионной хроматографии на хроматографе ICS-2000 («Dionex») с кондуктометрическим детектором на базе лаборатории медицинской биотехнологии НИИ уронефрологии и репродуктивного здоровья Первого МГМУ им И.М. Сеченова (зав. лабораторией С.В. Луценко).

### *Инструментальные исследования*

Исследование минеральной плотности костной ткани методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии проводилось в отделении рентгенодиагностики и компьютерной томографии (зав. отделением О.В. Ремизов). Ультразвуковое исследование почек и околощитовидных желез на базе отделения ультразвуковой диагностики ФГБУ ЭНЦ (зав. отделением д.м.н Т.В.Солдатова)

### *Молекулярно-генетическое исследование*

Молекулярно-генетическое исследование проведено на базе лаборатории наследственных болезней обмена веществ (зав отделением, д.м.н. Е.Ю. Захарова) ФГБУ Медико-генетического научного центра РАМН (директор, академик РАН, д.б.н. Е.К.Гинтер). Исследование полиморфизма гена *VDR* проведено у 169 пациентов в основной группе с ПГПТ, среди которых у 113 пациентов с НЛ и 56 без него. Исследование полиморфизмов гена *CASR* выполнено у 189 с ПГПТ, из которых 115 с НЛ и 85 без НЛ. В группе сравнения полиморфизмы

*VDR* исследованы у 65 пациентов с МКБ и 45 здоровых обследованных, полиморфизмы *CASR* – у 45 пациентов с МКБ и 32 здоровых обследованных. Исследуемые гены и полиморфизмы представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Исследуемые гены и их полиморфизмы.**

Ген/полиморфизм	SNP_ID	замена
<i>VDR</i>		
<i>Apal</i>	<i>rs7975232</i>	G>T
<i>Taq</i>	<i>rs731236</i>	T>C
<i>Cdx2</i>	<i>rs11568820</i>	G>A
<i>FokI</i>	<i>rs2228570</i>	T>C
<i>BsmI</i>	<i>rs1544410</i>	G>A
<i>CASR</i>		
<i>A986S</i>	<i>rs1801725</i>	G>T (Ala986Ser)
<i>R990G</i>	<i>rs1042636</i>	A>G (Arg990Gly)
<i>Q1011E</i>	<i>rs1801726</i>	C>G (Gln1011Glu)

Геномную ДНК выделяли из цельной крови, используя набор реактивов AxyPrep Blood GDNA Miniprep Kit (Axygen, США) по методике, рекомендованной изготовителем. Полимеразная цепная реакция проводилась в 25 мкл реакционной смеси, которая содержала 2 мкл образца ДНК и другие компоненты в следующих концентрациях: 0,2 мМ каждого дезоксинуклеозидтрифосфата (дАТФ, дЦТФ, дТТФ и дГТФ), 67 мМ Трис-НСl рН=8,8, 1,5 - 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50мМ NaCl, 1мМ 2-меркаптоэтанол, 0,1-0,4 мкг каждого из праймеров, а также 2,5 U термостабильной ДНК-полимеразы. Для предотвращения изменения концентраций компонентов образовавшейся реакционной смеси ее покрывали 30 мкл минерального масла ("Sigma"). Амплификация проводилась на многоканальном термоциклере "MC2" (АО "ДНК-Технология", Москва). Для каждой пары праймеров были подобраны условия, отличающиеся требуемой температурой отжига праймеров и концентрацией MgCl<sub>2</sub>.



Секвенирование ПЦР-фрагментов для выявления полиморфизмов *CASR* выполняли на приборе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems). Выявление полиморфизмов гена *VDR* проводили с помощью анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов (ПДРФ-анализ).

Выявление полиморфизма rs11568820 гена *VDR*. Для выявления полиморфизма rs11568820 полученный продукт реакции (176 п.н.) обрабатывался эндонуклеазой рестрикции Bst4C (ACN<sup>9</sup>GT) при условиях, рекомендованных производителем («СибЭнзим», Россия). Фрагменты ДНК разделялись в ПААГ в течение 30 минут. Присутствие сайта рестрикции определялось при наличии одного фрагмента 176 п.н, отсутствие по наличию двух фрагментов 125 п.н. и 51 п.н. Выявление полиморфизма rs2228570 гена *VDR*. Для выявления мутации rs2228570 полученный продукт реакции (290 п.н.) обрабатывался эндонуклеазой рестрикции FokI (GGATG(9/13) при условиях, рекомендованных производителем («СибЭнзим», Россия). Фрагменты ДНК разделяли в ПААГ в течение 30 минут. Присутствие сайта рестрикции определялось при наличии одного фрагмента 290 п.н, отсутствие по наличию двух фрагментов 224 п.н. и 63 п.н. Выявление полиморфизма rs1544410 гена *VDR*. Для выявления полиморфизма rs1544410 полученный продукт реакции (293 п.н.) обрабатывался эндонуклеазой рестрикции AspLEI (GCG<sup>9</sup>C) при условиях, рекомендованных производителем («СибЭнзим», Россия). Фрагменты ДНК разделяли в ПААГ в течение 30 минут. Присутствие сайта рестрикции определялось при наличии одного фрагмента 293 п.н, отсутствие по наличию двух фрагментов 200 п.н. и 93 п.н. Выявление полиморфизмов rs7975232 гена *VDR*. Для выявления полиморфизма rs7975232 полученный продукт реакции (479 п.н.) обрабатывался эндонуклеазой рестрикции PspOMI (G<sup>9</sup>GGCCC) при условиях, рекомендованных производителем («СибЭнзим», Россия). Фрагменты ДНК разделяли в ПААГ в течение 30 минут. Присутствие сайта рестрикции определялось при наличии одного фрагмента 479 п.н, отсутствие по наличию двух фрагментов 322 п.н. и 157 п.н. Выявление полиморфизма rs731236 в гене *VDR*. Для выявления rs731236 полученный продукт реакции (126 п.н.) обрабатывался эндонуклеазой рестрикции BstMBI (GATC) при условиях, рекомендованных производителем («СибЭнзим», Россия). Фрагменты ДНК разделяли в ПААГ в течение 30 минут. Присутствие сайта рестрикции определялось при наличии двух фрагментов 95 п.н. и 29 п.н, отсутствие по наличию фрагмента 126 п.н.

## Статистический анализ полученных данных

Статистическая обработка результатов производилась с помощью пакета прикладных программ StatSoft© STATISTICA®8.0 для Microsoft® Windows 7. Для сравнения групп по непараметрическим параметрам для независимых признаков производилось с использованием критерия Манна-Уитни. Наличие корреляции между количественными признаками оценивали при помощи ранговой корреляции Спирмена (коэффициент  $r$ ). Сравнение групп по качественному признаку производилось с использованием двустороннего варианта точного критерия Фишера. Поиск прогностических факторов для развития нефролитиаза производился с применением прямой и обратной пошаговых процедур логистического регрессионного анализа (коэффициент  $\beta$ ). С целью графического представления данных и расчета оптимального значения величины порога отсечения исследуемых признаков использовался метод построения ROC-кривой. Для получения численного значения клинической значимости теста использован показатель AUC (площадь под ROC-кривой). Сравнение между исследуемыми группами по частоте распространения генотипов и аллелей производилось с использованием критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) при помощи электронного калькулятора [www.gen-exr.ru](http://www.gen-exr.ru), при частоте наблюдений меньше или равном 5 использовался точный критерий Фишера. Уровень статистической значимости результатов был установлен при значении  $p$  менее 0,05.

## Результаты исследования и их обсуждение

### Роль поло-возрастных и метаболических различий в развитии нефролитиаза

В соответствии с целями и задачами пациенты с ПГПТ разделены на 2 группы: с наличием НЛ ( $n=135$ ) и больных без НЛ ( $n=68$ ). Общая характеристика пациентов обеих группах представлена в таблице 2.

**Таблица 2. Основные характеристики пациентов с НЛ и без НЛ при ПГПТ**

Показатель	Группа НЛ	Группа без НЛ	$p$
Кол-во пациентов, чел	135	68	-
Возраст, лет	50 [40,5;61]	54 [47;68]	0,36
Пол (М/Ж)	20/115	9/59	0,015
Женщины в менопаузе, %	51%	47%	0,20

Длительность ПГПТ, лет	3 [1;7]	2 [1;4]	0,006
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,2 [22,4;30,8]	26,5 [22,2;31,8]	0,747
Частота ожирения, %	18,3%	15,7%	0,179
Частота МС, %	7,86%	6,14%	0,183

При анализе половых особенностей была отмечено, что НЛ чаще встречался среди мужчин, чем среди женщин ( $p=0,015$ ). Медиана возраста на момент манифестации заболевания достоверно не отличалась между группой с НЛ и без НЛ (Таблица 2). При этом, у мужчин младше 50 лет НЛ наблюдался чаще, чем у мужчин старшего возраста ( $p=0,039$ ).

Длительность основного заболевания была выше среди пациентов группы НЛ, чем среди пациентов группы без НЛ (3[1;7] лет vs 2[1;4] лет  $p=0,006$ ). При этом, в 37,7% случаев НЛ являлся первым проявлением ПГПТ и длительность его течения до момента выявления ПГПТ составила от 5 до 10 лет, что свидетельствует о недостаточной диагностике заболевания среди пациентов с конкрементами почек.

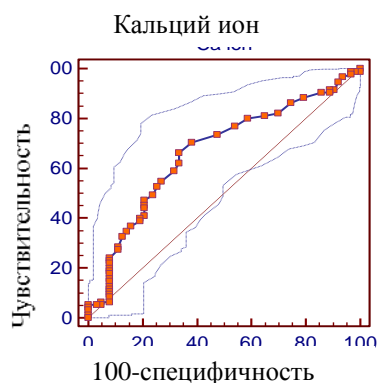
При оценке метаболических изменений у пациентов обеих групп, достоверных различий по ИМТ, частоте ожирения и метаболического синдрома получено не было, что согласуется с рядом исследователей (Таблица 2).

НЛ на фоне ПГПТ характеризовался в большинстве случаев рецидивирующим течением (в 49,7%). При этом, достаточно часто встречалось асимптомное течение НЛ (в 25,2%) и у 48% из них конкременты впервые выявлены при прицельном обследовании почек. По диаметру конкрементов преобладали микролиты до 1,0 см (в 57%), тем не менее камни более 1 см так же встречались с большой частотой: до 2,0см - в 23,6% см, до 3,0 см - в 14,9% и коралловидные камни в 3,5%.

### **Нарушение фосфорно-кальциевого обмена как фактор риска нефролитиаза**

При анализе показателей фосфорно-кальциевого обмена в группе НЛ отмечены достоверно более высокие значения общего (2,96[2,71;3,185] vs 2,85[2,67;2,95],  $p=0,014$ ) и ионизированного кальция (1,41[1,29;1,5] vs 1,33 [1,25;1,37],  $p=0,0019$ ), ПТГ (553[134,4;587,9] vs 334,7[104,5;250,3],  $p=0,0004$ ) в сравнении с больными без НЛ, что характеризует более тяжелое течение гиперпаратиреоза в группе НЛ (Рисунок 1). Между группами так же были обнаружены различия и по уровню фосфора (0,812[0,675;0,91] vs 0,972 [0,75;0,98] моль/л,  $p=0,034$ ) и ЩФ (144 [86;254] vs 115 [72;223,2],  $p=0,086$ ).

При проведении логистического регрессионного анализа с целью оценки влияния общего и ионизированного кальция, ПТГ, 25(OH)D на развитие НЛ при ПГПТ было выявлено, что достоверным независимым предиктором являлся уровень ионизированного кальция ( $\beta=3,7$  [1,21;6,12],  $p=0,00035$ ). Прогностически значимым в повышении риска развития НЛ при ПГПТ может считаться уровень ионизированного кальция выше 1,31 ммоль/л, при этом чувствительность составляет 66,3%, специфичность- 66,7%. Площадь под ROC (AUC) составила 0,666 (95%ДИ 0,587-0,739,  $p=0,0002$ ) (Рисунок 3).



**Рисунок 3. ROC-кривая для ионизированного кальция.**

### **Состояние почечной функции в зависимости от наличия и отсутствия нефролитиаза на фоне ПГПТ**

У больных, имеющих НЛ, при сравнении с группой без НЛ, отмечался более высокий уровень креатинина и низкий уровень СКФ, что характеризует более выраженное нарушение фильтрационной функции почек в данной группе больных (83,26 [62;82] vs 68 [55,7; 67,2],  $p=0,000$  и 83 [61;101] vs 92,6 [86;106] соответственно,  $p=0,000$ ).

При сравнении концентрационной функции почек выявлено, что НЛ сопровождается более высокой осмоляльностью утренней мочи, 0,582 [0,385;1,04] vs 0,463 [0,209;0,611] ( $p=0,0036$ ) и более высоким индексом осмоляльности, 1,75 [1,32; 2,03] vs 1,54 [1,036;1,78] ( $p=0,0084$ ).

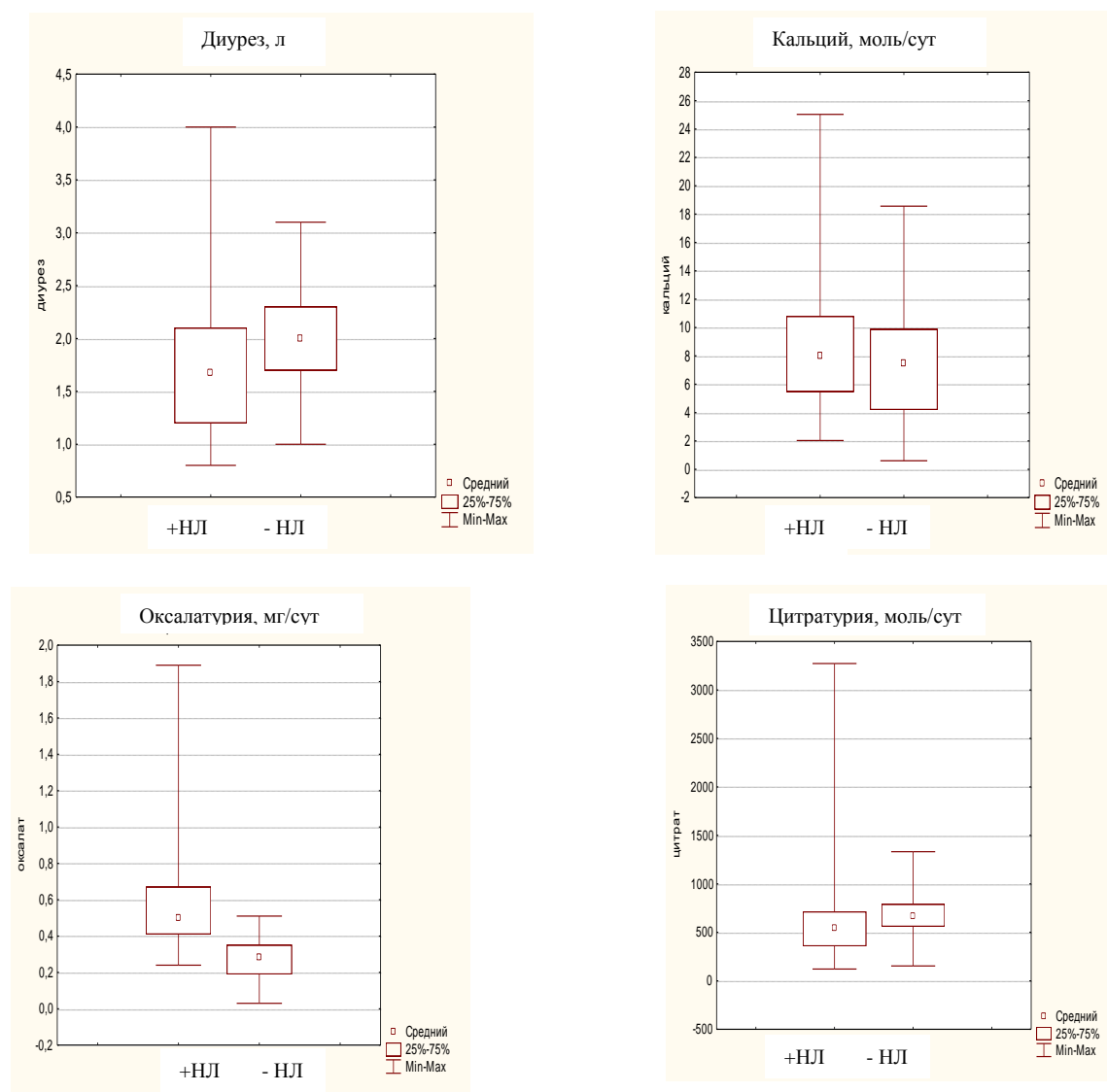
Логистический регрессионный анализ показал, что осмоляльность утренней мочи является независимым прогностическим фактором, влияющими на развитие НЛ ( $\beta=3,027$  [0,70;5,35],  $p=0,01$ ).

## Концентрация ингибиторов и промоторов кристаллизации суточной мочи как фактор риска нефролитиаза при ПГПТ

Для выявления предикторов развития НЛ на фоне ПГПТ было проведено исследование биохимических и химических показателей суточной мочи.

Значимых различий в уровне сульфатурии, фосфатурии, натрийурии, калийурии, уратурии не получено ( $p > 0,05$  для всех показателей).

Достоверные различия между группой с НЛ и без НЛ выявлялись по уровню диуреза, оксалатурии и цитратурии, что позволяет предполагать их роль в повышении риска развития НЛ (Рисунок 4).

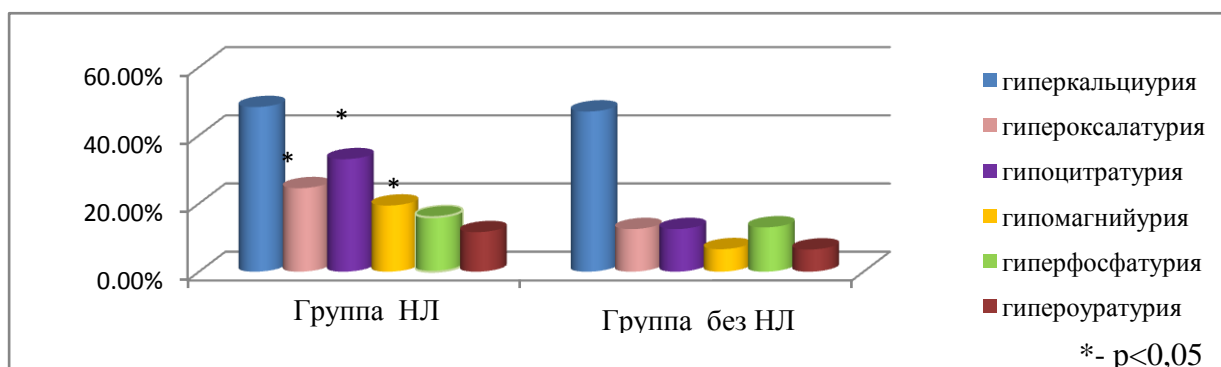


**Рисунок 4. Различия параметров суточной мочи между группами с и без нефролитиаза**

Так, больные в группе НЛ демонстрируют статистически значимо меньший суточный диурез в отличие от пациентов без НЛ (1,8 [1,1;2,0] vs 1,945[1,3;2,75],  $p=0,039$ ), что может подтверждать роль полиурии как протективного фактора в риске развития НЛ.

Гипотеза о ведущей роли кальциурии в развитии НЛ по результатам нашего исследования не подтвердилась. Значимых различий уровня кальциурии между группами получено не было (8,12[5,16;10,41] vs 7,79 [5,51;11,3],  $p=0,69$ ). При этом, оксалатурия была достоверно выше у больных в группе НЛ ( $p=0,029$ ). Оценка концентрации ингибиторов кристаллизации показала, что больные в группе НЛ имели достоверно более низкое содержание одного из основных ингибиторов кристаллизации мочи, цитрата, (500,6 [283,9; 668,4] vs 695,5 [480;780],  $p=0,018$ ).

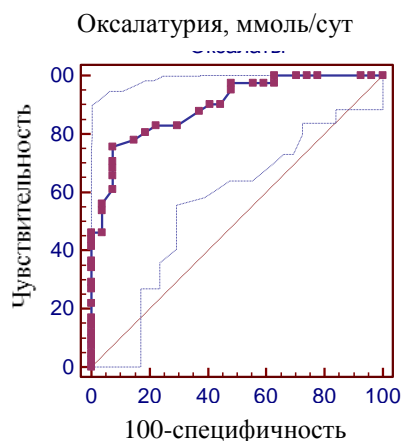
Пациенты с НЛ на фоне ПГПТ характеризуются достоверно большей частотой гипероксалатурии ( $p=0,027$ ), гипоцитратурии ( $p=0,0109$ ) и гипомагниурии ( $p=0,044$ ). При этом, частота гиперкальциурии была высокой в обеих группах (48,3% vs 47%) и значимо не различалась ( $p=0,565$ ) (Рисунок 5). Таким образом, у пациентов с НЛ на фоне ПГПТ помимо гиперкальциурии отмечаются и другие метаболические изменения в суточной моче, сопровождающиеся дисбалансом концентрации ингибиторов и промоутеров кристаллизации мочи, что может предполагать их роль в повышении риска камнеобразования.



**Рисунок 5. Частота различных нарушений в показателях суточной мочи у больных ПГПТ.**

Оценка взаимосвязи основных показателей заболевания с уровнем промоутеров и кристаллизации мочи показал достоверную ассоциацию кальциурии с суточным диурезом ( $r_s=0,432$ ,  $p=0,012$ ), натрийурией ( $r_s=0,225$ ,  $p=0,034$ ), фосфатурией ( $r_s=0,431$ ,  $p=0,0013$ ), оксатурией ( $r_s=0,0475$ ,  $p=0,024$ ). Имеется слабая ассоциация уровня ПТГ и оксалатурии ( $r=0,362$ ,  $p=0,002$ ), других достоверных взаимосвязей ПТГ, кальциемии с концентрацией ингибиторов и промоутеров кристаллизации мочи не выявлено.

По данным логистического регрессионного анализа, в котором оценивались роль суточной кальциурии, цитратурии, магниурии и оксалатурии, достоверным предиктором развития НЛ при ПГПТ является оксалатурия ( $\beta=2,47$  [1,15;3,08],  $p=0,043$ ) и ее прогностически неблагоприятный уровень составил более 0,39 мг/сут, чувствительность для данной точки составляет 75,6%, специфичность 92,6%. Площадь под ROC-кривой (AUC) составляет 0,896 (95%ДИ; 0,785- 0,957,  $p=0,000$ ) (Рисунок 6).



**Рисунок 6. ROC-кривая для суточной оксалатурии**

### **Сравнительная оценка больных мягкой формой ПГПТ и больных с нефролитиазом на фоне ПГПТ.**

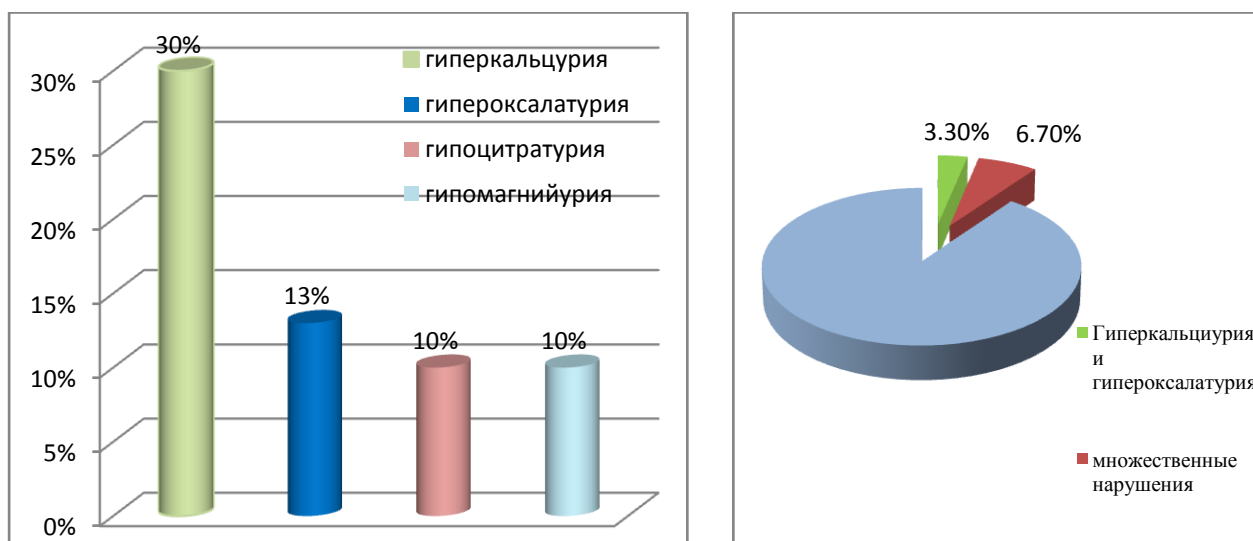
Оценка лабораторных показателей крови в группе НЛ на фоне ПГПТ и группе с мягкой формой выявила различия практически по всем показателям фосфорно-кальциевого обмена, что и было ожидаемо, учитывая различия между формами первичного гиперпаратиреоза. Пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту, (50 [40,5;61] vs 54 [52;67],  $p=0,145$ ). Мужской пол значимо чаще встречался в группе НЛ, чем среди больных мягкой формой (17% vs 6,6%,  $p=0,031$ ). Оценка концентрационной функции у больных с мягкой формой ПГПТ показывает достоверно более низкие показатели осмоляльности утренней мочи чем в группе с НЛ на фоне ПГПТ (0,537 [0,487;0,692] vs 0,582 [0,385;1,04],  $p=0,012$ ), а так же тенденцию к более низкому индексу осмоляльности (1,55 [1,492;2,083] vs 1,75 [1,32; 2,03],  $p=0,057$ ). Таким образом, больные с НЛ на фоне ПГПТ относительно больных с мягкой формой характеризуются значимым нарушением концентрационной функции почек. Кроме того, у больных с мягкой формой заболевания отмечает значимо больший диурез, что так же подтверждает его протективную роль (Таблица 3).

У больных с мягкой формой наблюдается достоверно меньшую кальциурию ( $p=0,032$ ), оксалатурию ( $p=0,045$ ), фосфатурию ( $p=0,014$ ), более высокий уровень цитрата ( $p=0,021$ ), чем в группе с НЛ на фоне ПГПТ (Таблица 3.).

**Таблица 3. Сравнительная характеристика больных с мягкой формой и больных с НЛ на фоне ПГПТ.**

параметр	Группа НЛ на фоне ПГПТ	Группа с мягкой формой	p
Диурез, л	1,8 [1,1;2,0]	2,0 [1,6;2,4]	0,028
Кальций, ммоль/сут	8,1 [5,16;10,41]	7,2 [4,1;9,5]	0,032
Фосфаты, ммоль/сут	32,2[21,5;38,8]	25,6 [19,9;32,2]	0,014
Оксалаты, ммоль/сут	0,484 [0,3;0,57]	0,354 [0,27;0,47]	0,045
Цитрат, мг/сут	500,6 [283,9;668,4]	636,7 [556;724]	0,021
Магний, ммоль/сут	4,06 [2,95;4,55]	4,6 [3,2;6,05]	0,037

При оценке частоты различных метаболических изменений в суточной моче в группе больных мягкой формой обнаружено, что гиперкальциурия встречается у 30 % больных, гипероксалатурия у 13%, гипомагниурия и гипоцитратурия у 10%, нарушения уровня других показателей выявлено не было. При этом, у 10 % больных выявлялась как гиперкальциурия, так и гипероксалатурия, у 6,7% выявлено сочетание гиперкальциурия и гипероксалатурии, гипоцитратурии, гипомагниурии, что свидетельствует о выраженных комплексных нарушениях суточной мочи и высокой вероятности камнеобразования (Рисунок 7)



**Рисунок 6. Частота различных изменений в суточной моче у больных с мягкой формой ПГПТ.**



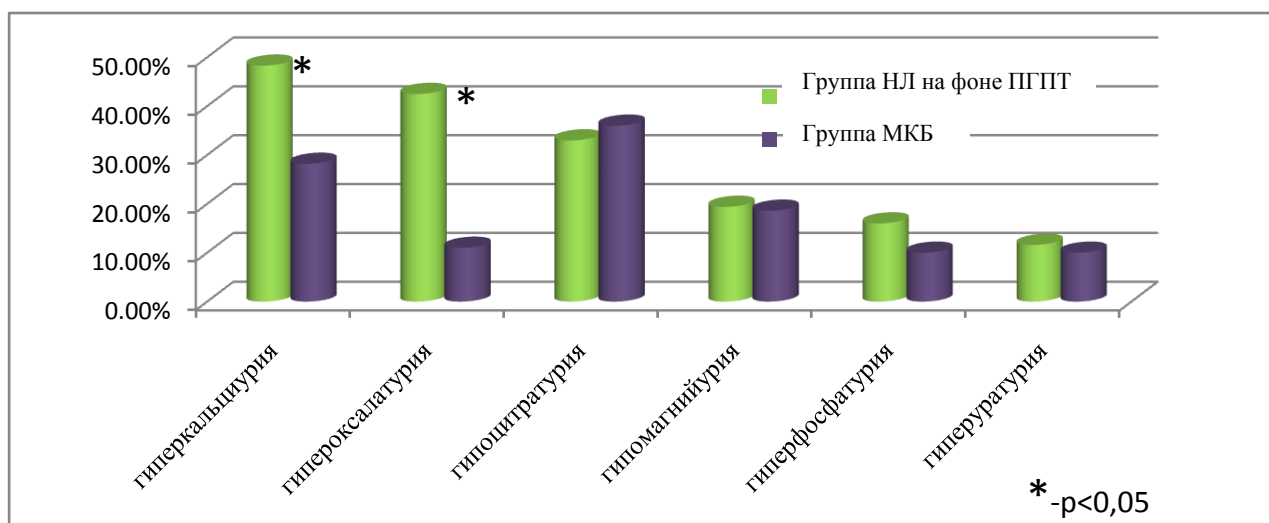
### Сравнительная характеристика группы нефролитиаза на фоне ПГПТ и группы МКБ

Для выявления особенностей НЛ на фоне ПГПТ в сравнении с МКБ проведен сравнительный анализ. Была подобрана группа из 67 пациентов с МКБ, сопоставимых по возрасту, полу, ИМТ, частоте ожирения и метаболического синдрома. Так же группы были сопоставимы по частоте рецидивирования НЛ и диаметру конкрементов.

В соответствии с основными лабораторными проявлениями ПГПТ имелись достоверные различия по уровню ПТГ, общего и ионизированного кальция. У больных с МКБ в 38% случаев выявляется повышение уровня ПТГ (ПТГ79,3 [69,01;112,0] пг/мл). После анализа данной подгруппы состояние было расценено как вторичный ГПТ. У всех больных данной подгруппы отмечалось снижение уровня 25(ОН)D. На фоне низкого уровня 25 Он витамина Д у 15% имелась гипокальциурия и у 11% гиперкальциурия, расцененная как результат наличия конкрементов.

При сравнении лабораторных изменений в суточной моче было выявлено, что у больных НЛ на фоне ПГПТ отмечалась достоверно большая экскреция кальция с мочой (8,12 vs 4,16 ммоль/сут,  $p=0,000$ ) и достоверно более выраженная оксалурия (0,484 vs 0,394,  $p=0,0167$ ). Средние значения других показателей мочи (фосфатурия, оксалурия, цитратурия, уратурия, экскреция калия, натрия, хлоридов) были схожими и не отличались в обеих группах.

Пациенты с МКБ так же характеризовались гиперкальциурией и гипероксалурией, но достоверно реже, чем пациент с НЛ на фоне ПГПТ (48,3% vs 28,2% и гипероксалурии 42,5% vs 11% соответственно,  $p<0,05$ ). Кроме того, у больных МКБ в 15% случаев ( $1,5\pm 0,76$  ммоль/л) имелась гипокальциурия, что обусловлено сопутствующим дефицитом витамина Д. Различий в других показателях мочи не выявлено (Рисунок 8).



**Рисунок 8. Частота выявления различных нарушений суточной мочи при НЛ на фоне ПГПТ и в группе больных МКБ.**

## Характеристика костной плотности и активности костного метаболизма как фактор риска нефролитиаза

При оценке маркеров костного метаболизма было получено, что уровень b-cross laps был достоверно выше среди больных в группе НЛ по сравнению с больными в группе без НЛ (1,21[0,74;1,21] vs 0,877[0,55;1,41],  $p=0,0041$ ). Значение показателей костеобразования - ЩФ и остеокальцина, имели тенденцию к более высокому среднему уровню среди больных НЛ группы (144 [86;254] vs 115 [72;223,2], ( $p=0,086$ ) и 63,1 [36,6;131,7] vs 48,66 [29,1;77,2],  $p=0,055$ , соответственно).

Анализ костной плотности трех отделов скелета выявил более низкие значения костной плотности в позвоночнике и лучевой кости у женщин до наступления менопаузы в группе НЛ, по сравнению с женщинами в группе без НЛ, в области бедренной кости достоверных различий получено не было. Так же нами не было выявлено значимых различий величины МПК у женщин старше 45 лет и у мужчин.

### Полиморфизмы VDR и CASR как факторы риска нефролитиаза

Оценка полиморфизмов VDR и CASR показала их высокую частоту встречаемости у больных ПГПТ. У пациентов с НЛ и без НЛ частота различных генотипов CASR была практически одинаковой и достоверно не различались между группам ( $p>0,05$ ), в группе НЛ распределение генотипов было следующим: нормальный генотип AA у 70,9%, AS у 23,6%, SS 5,5%; генотип QQ 83,6%, QE в 14,5%, EE в 1,8%; нормальный генотип RR у 76,4%, RG у 20,9%, GG 2,7%. В группе без НЛ были получены такие данные: нормальный генотип AA 62,1%, AS- 32,2% и генотип SS- 5,7%; генотип QQ 90,8%, QE- 8,0% и генотип EE- 1,1%; RR 78,2%, генотип RG- 19,5% и генотип GG- 2,3%. Кроме того, мы не получили статистически значимых различий в частоте аллелей CASR между группами: для  $R990G$   $p=0,74$ , для  $Q1011E$   $p=0,14$ , для  $A986S$   $p=0,25$  (Рисунок 9.)

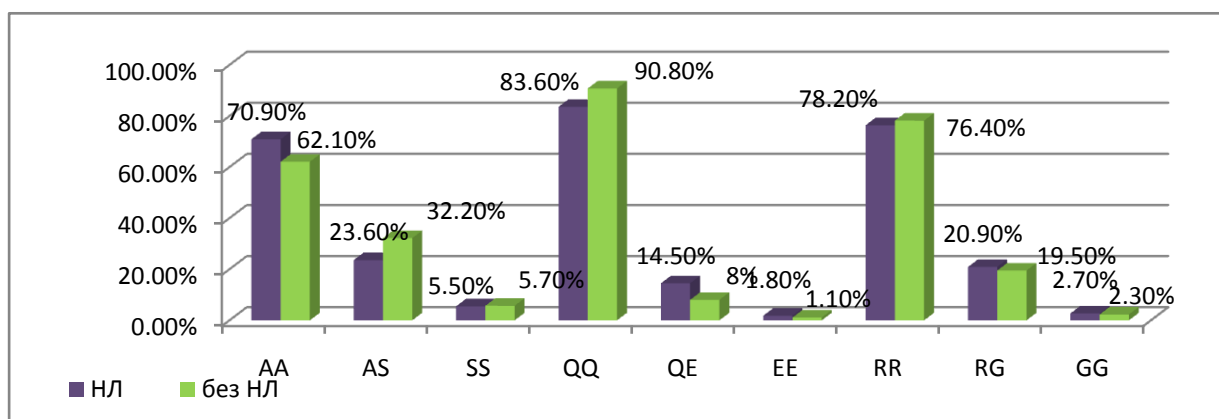
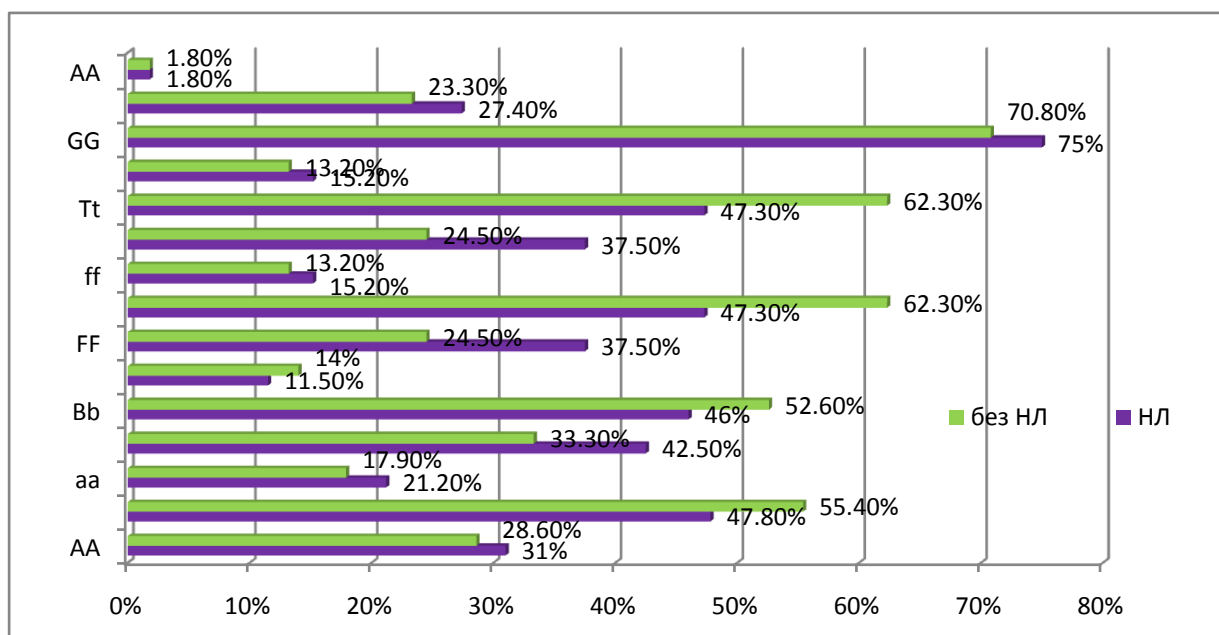


Рисунок 9. Частота выявления различных генотипов CASR в обеих группах

Взаимосвязи генотипов и аллелей полиморфизмов *CASR* с показателями фосфорно-кальциевого обмена (уровень кальция в крови и суточной моче, ПТГ, маркеров костного обмена, величиной МПК) получено не было.

Распределение генотипов *VDR* в группе ПГПТ с НЛ характеризовалась наличием нормального генотипа AA 31%, генотипа Aa 47,8% и генотипа aa 21,2%; генотипа BB 42,5%, Bb 46%, bb в 11,5%; генотипа FF 37,5%, Ff 47,3%, ff 15,2%; генотипа GG 75%, Ga 27,4%, aa 1,8%; генотипа TT 37,5%, Tt 47,3% и tt 15,2% (Рисунок 10). Анализ группы ПГПТ без НЛ выявил следующие результаты: нормальный генотип AA 28,6%, Aa 55,4%, aa 17,9%; генотип BB 33,3%, Bb 52,6%, bb 14%; генотип FF 24,5%, Ff 62,3%, ff 13,2%; генотип GG 70,8%, Ga 23,2%, aa 1,8%; генотип TT 24,5%, Tt 62,3%, tt 13,2%. Так же не было получено достоверных различий и при сравнении частоты аллелей полиморфизмов *VDR*: *ApaI*  $p=0,94$ , для *BsmI*  $p=0,76$ , для *FokI*  $p=0,34$ , для *Cdx2*  $p=0,61$ , для *TaqI*  $p=0,34$ .

Учитывая данные литературы о взаимосвязи полиморфизмов изучаемых генов с развитием конкрементов почек, было предпринято сравнительное исследование между группой МКБ и группой контроля. При сравнении частоты генотипов и аллелей полиморфизмов *VDR* и *CASR* между группой МКБ и практически здоровыми лицами достоверных различий получено не было ( $p>0,05$ ).



**Рисунок 10. Распределение различных генотипов *VDR* в обеих группах.**

При оценке влияния полиморфизмов *VDR* на клинико-лабораторные проявления ПГПТ, было получено, что при наличии различных генотипов и аллелей полиморфизмов *ApaI*, *Cdx2*, *TaqI* средние значения показателей, обуславливающих фосфорно-кальциевый обмен,

маркеры костного обмена и показатели МПК в трех отделах скелета, значимо не различались ( $p > 0,05$ ).

При исследовании полиморфизма *BsmI* было получено, что носители генотипа bb имеют значимо более низкое содержание остеокальцина по сравнению с носителями генотипа BB+Bb (68,2[25,5;108,9] vs 93,15 [34,5;115,5],  $p=0,041$ ). При этом, при генотипе bb уровень b-cross laps был ниже как при сравнении с генотипом BB, так и при сравнении с BB+Bb ( $p=0,047$  и  $p=0,036$ ). Кроме того, имелась тенденция к более низкому уровню ПТГ ( $p=0,06$ ) при наличии данного генотипа, чем при bb и BB+Bb.

Показатели костной плотности во всех отделах скелета были выше у пациентов с bb генотипом, чем у носителей других генотипов, однако статистической значимости эти различия достигли только в области позвоночника ( $p=0,038$  для bb vs Bb,  $p=0,027$  для bb vs Bb). По полученным результатам можно предполагать протективную роль генотипа bb на костный обмен.

При оценке полиморфизма *FokI* было выявлено, что у носителей генотипа FF имеется достоверно более высокий уровень 25 (ОН)D в крови, чем при наличии генотипа ff и Ff ( $p=0,014$ ). Носители аллеля F имели тенденцию к более высокому уровню ПТГ, ЩФ и маркеров костного обмена ( $p > 0,05$ ). Различий в показателях костной плотности у носителей различных генотипов полиморфизма не выявлено.

### Выводы

1. У пациентов с нефролитиазом при ПГПТ значимо более выражены нарушения минерального обмена, костного метаболизма, функции почек в сравнении с группой ПГПТ без нефролитиаза.
2. Нефролитиаз на фоне ПГПТ в отличие от мочекаменной болезни характеризуется достоверно большей частотой гиперкальциурии и гипероксалурии.
3. Взаимосвязи полиморфизма генов *VDR* и *CASR* с повышением риска развития НЛ при ПГПТ не выявлено.
4. Выявлена взаимосвязь между полиморфизмом *VDR* и лабораторно-инструментальными показателями при ПГПТ:
  - а) носители генотипа FF полиморфизма *FokI* имеют более высокий уровень 25 (ОН)D, чем при наличии генотипов ff и Ff.
  - в) носители генотипа bb полиморфизма *BsmI* характеризуются достоверно более низким уровнем маркеров костного обмена, чем при наличии генотипа Bb+bb, а

также более высокими показателями МПК в позвоночнике, что может свидетельствовать о протективном влиянии генотипа bb на костный обмен.

5. Прогностическими факторами развития НЛ при ПГПТ являются уровень ионизированного кальция более 1,31 ммоль/л, повышение осмоляльности утренней мочи и повышение концентрации оксалатов в суточной моче более 0,39 ммоль/сут.

### **Практические рекомендации**

1. Учитывая высокую частоту асимптомного нефролитиаза и снижения почечной функции все пациенты с подтвержденным ПГПТ нуждаются в прицельном обследовании почек.
2. Для оценки риска возникновения нефролитиаза у больных первичным гиперпаратиреозом в алгоритм обследования необходимо включить исследование концентрационной функции почек и исследование метаболических нарушений в суточной моче (определение кальциурии, оксалатурии, магнийурии, цитратурии).
3. У пациентов с мягкой формой ПГПТ сочетание ионизированного кальция более 1,31 ммоль/л, суточной оксалатурии более 0,39 мг/сут, повышенной осмоляльности утренней мочи является дополнительным показанием к проведению хирургического лечения.
4. Пациентам с мягкой формой первичного гиперпаратиреоза при консервативной тактике рекомендуется контроль ионизированного кальция, суточной оксалатурии и осмоляльности суточной мочи 1 раз в 6 мес, проведение УЗИ почек 1 раз в 12 мес.

### **Список научных работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Дедов И.И., Мокрышева Н.Г, Рожинская Л.Я, **Перетокина Е.В.** и др. Анализ основных эпидемиологических характеристик первичного гиперпаратиреоза в России (по данным регистра) // Проблемы эндокринологии. 2012-№ 5-С.16-20.
2. Мокрышева Н.Г, **Перетокина Е.В.**, Рожинская Л.Я. Клинический пример консервативного ведения пациентки с манифестной формой первичного гиперпаратиреоза.//Терапевтический архив 2014-№10(86)-С. 99-101.
3. Дзеранов Н.К, Егшатын Л.В, Мокрышева Н.Г, **Перетокина Е.В.** Характеристики клинико-лабораторных показателей у пациентов с мочекаменной болезнью при наличии и отсутствии первичного гиперпаратиреоза//Урология 2013-№6-С.14-19.
4. **Перетокина Е.В.**, Мокрышева Н.Г. Первичный гиперпаратиреоз, современный взгляд.//Ожирение и метаболизм. 2014-№3-С.3-8.

5. **Перетокина Е.В.**, Мокрышева Н.Г. и др Анализ ассоциации полиморфизмов генов VDR и CASR с развитием нефролитиаза у больных первичным гиперпаратиреозом. //Проблемы эндокринологии. 2015-№5-С. 4-8.
6. **Перетокина Е.В.**, Мокрышева Н.Г. Факторы риска развития нефролитиаза у больных первичным гиперпаратиреозом. Сборник научных трудов по результатам международной научно-практической конференции «Об актуальных вопросах современной медицины». 2014-С.109-112
7. Мокрышева Н.Г., Мирная С.С., **Перетокина Е.В.** Оценка состояния почек на фоне первичного гиперпаратиреоза VI всероссийский конгресс эндокринологов. 2012-с.410
8. Егшатын Л.В., **Перетокина Е.В.**, Ларцова Е.В., Дзеранов Н.К. Гормонально-метаболические нарушения у пациентов с МКБ. Сборник тезисов XII Съезда Российского общества урологов. 2012-С. 177.
9. **Перетокина Е.В.**, Егшатын Л.В., Мокрышева Н.Г, Рожинская Л.Я., Дзеранов Н.К Анализ результатов скрининга гиперкальциемии среди пациентов с МКБ. Сборник тезисов XII Съезда Российского общества урологов. 2012-С.190.
10. Дзеранов Н.К, Егшатын Л.В, Мокрышева Н.Г, **Перетокина Е.В.** Биохимические показатели крови и мочи больных МКБ при наличии и отсутствии первичного гиперпаратиреоза. Сборник тезисов II Научно-практической конференции «Фундаментальная и клиническая урология. 2013-С.137
11. **Перетокина Е.В.**, Егшатын Л.В, Дзеранов Н.К, Мокрышева Н.Г. Состояние костного обмена у больных мочекаменной болезнью. Сборник тезисов V российского конгресса по остеопорозу и другим метаболическим заболеваниям скелета. 2013- С.136
12. **Peretokina E.V.**, Mokrysheva N.G., Rozynskaya L.Ya., Egshatayan L.V. State of bone metabolism in patients with urolithiasis. 16<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology. Endocrine abstract 2014-№ 36-P89
13. **Peretokina E.V.**, Mokrysheva N.G., Rozynskaya L.Ya. Clinical case of patients with severe tertiary hyperparathyroidism, osteitisfibrosacystica and osteomalacia as consequence of severe vitamin D deficiency. European calcified tissue society congress. Bone Abstract 2014-№3-P402
14. **Peretokina E.V.**, Mokrysheva N.G., Rozhynskaya L. Ya., Zacharova E. Yu. The relationship of genetic factors to the development of nephrolithiasis in primary hyperparathyroidism (PHPT) 17<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology. Endocrine abstract 2015-№ 37-EP685
15. **Peretokina E.V.**, Mokrysheva N.G., Rozhynskaya L. Ya., Zacharova E. Yu. Association of polymorphisms of VDR and CASR with clinical and laboratory manifestations of primary

hyperparathyroidism (PHPT). 17<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology. Endocrine abstract  
2015-№ 37-EP685

### **Список принятых сокращений**

**ПГПТ** - первичный гиперпаратиреоз

**НЛ** - нефролитиаз

**ПТЭ** - паратиреоидэктомия

**СКФ** - скорость клубочковой фильтрации

**25(OH)D** - 25 ОН витамин Д

**VDR** - ген рецептора витамина Д

**CASR** - ген кальций чувствительного рецептора

**ПТГ** - паратиреоидэктомия

**ЩФ** - щелочная фосфатаза

**ОЩЖ**- околощитовидные железы

**МС** –метаболический синдром

**МК**- мочева кислота

**+НЛ** - группа с нефролитиазом

**-НЛ** - группа без нефролитиаза