

УДК 612.392.6:616-003.261-053.2

С.В. МАЛЬЦЕВ¹, Т.В. МИХАЙЛОВА¹, О.А. КРАВЦОВА²

¹Казанская государственная медицинская академия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 36

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

Генетические и клинические аспекты нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией

Мальцев Станислав Викторович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии с курсом поликлинической педиатрии, тел. (843) 236-20-84, e-mail: maltc@mail.ru

Михайлова Татьяна Владимировна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии с курсом поликлинической педиатрии, тел. (843) 236-20-84, e-mail: tatiana.mih@mail.ru

Кравцова Ольга Александровна — кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии тел. +7-905-312-99-80, e-mail: okravz@rambler.ru

В статье представлены результаты обследования 56 детей в возрасте от 1 до 16 лет: у 22 из них диагностирован нефрокальциноз, у 11 — нефролитиаз на фоне гиперкальциурии, у 23 наблюдалась гиперкальциурия без образования конкрементов и кальцинатов в органах мочевой системы. Проведен анализ ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs4987682 Thr681Met, rs4987667 Val378Met, rs4987657 Cys157Arg гена кальциевого ваниллоидного мембранного канала TRPV6, rs104893723 Gly198Asp гена белка плотных межклеточных контактов CLDN16, rs13324142 Val185Met гена анионного транспортера SLC26A6 с развитием гиперкальциурии, нефролитиаза и нефрокальциноза у детей. С риском развития нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией ассоциирован полиморфизм гена TRPV6. Предрасполагающими являлись гомозиготный генотип по T-аллелю (TT) полиморфизма rs4987682 C2042T Thr681Met гена TRPV6 и генотип AA полиморфизма rs4987667 G1132A Val378Met гена TRPV6. При исследовании минеральной плотности кости у детей с гиперкальциурией остеопения наблюдалась в 45% случаев, что повышало риск развития переломов.

Ключевые слова: гиперкальциурия, нефролитиаз, нефрокальциноз. анализ ассоциации полиморфизмов генов TRPV6, CLDN16, SLC26A6.

S.V. MALTSEV¹, T.V. MIKHAILOVA¹, O.A. KRAVTSOVA²

¹Kazan State Medical Academy, 36 Butlerov St., Kazan, Russian Federation, 420012

²Kazan (Volga region) Federal University, 18 Kremlevskaya St., Kazan, Russian Federation, 420008

Genetic and clinical aspects of nephrolithiasis and nephrocalcinosis in children with hypercalciuria

Maltsev S.V. — D. Med. Sc., Professor, Head of the Department of Pediatrics with a course in Polyclinic Pediatrics, tel. (843) 236-20-84, e-mail: maltc@mail.ru

Mikhailova T.V. — Cand. Med. Sc., Associate Professor of the Department of Pediatrics with a course of Polyclinic Pediatrics, tel. (843) 236-20-84, e-mail: tatiana.mih@mail.ru

Kravtsova O.A. — PhD (Biology), Associate Professor of the Department of Biochemistry, tel. +7-905-312-99-80, e-mail: okravz@rambler.ru

The article presents the results of examination of 56 children aged 1 to 16 years, 22 of them with nephrocalcinosis, 11 — with nephrolithiasis with hypercalciuria, 23 — with hypercalciuria without concretions and calculates in the urinary system. The analysis was carried out of the association of single-nucleotide polymorphisms rs4987682 Thr681Met, rs4987667 Val378Met, rs4987657 Cys157Arg of a gene calcium vanilloideae membrane channel TRPV6, rs104893723 Gly198Asp of a gene protein of dense intercellular contacts CLDN16, rs13324142 Val185Met of a gene anion transporter SLC26A6 with the development of hypercalciuria, nephrolithiasis and nephrocalcinosis in children. The risk of nephrolithiasis and nephrocalcinosis in children with hypercalciuria is associated with TRPV6 gene polymorphism. Predisposing factors are homozygous genotype for the T allele (TT) polymorphism rs4987682 C2042T Thr681Met TRPV6 gene and genotype AA polymorphism rs4987667 G1132A Val378Met TRPV6 gene. In the study of bone mineral density in children with hypercalciuria, osteopenia was observed in 45% of cases, which is increasing the risk of fractures.

Key words: hypercalciuria, nephrolithiasis, nephrocalcinosis, analysis of the polymorphism associations of TRPV6, CLDN16 and SLC26A6 genes.



Уролитиаз и нефрокальциноз представляют одну из актуальных проблем современной нефрологии в связи с большой распространенностью, тяжестью клинических проявлений, склонностью к рецидивированию и снижением функций почек. Распространенность нефролитиаза у детей ниже, чем у взрослых, и по России составляет около 19-20 случаев, тогда как у подростков — 80-82 случая, а у взрослых — 450-460 случаев на 100 тыс. населения [1-4]. Под уролитиазом понимают образование камней в органах мочевой системы, включая нефролитиаз — камнеобразование в чашечно-лоханочной системе. Термин нефрокальциноз используется в случае отложения солей кальция в канальцах и интерстициальной ткани почек [1-3, 5].

Уролитиаз и нефрокальциноз являются проявлением гетерогенной группы заболеваний. Значение генетических факторов в возникновении мочекаменной болезни подтверждена многочисленными исследованиями [6-11]. Так, среди родственников детей с мочекаменной болезнью частота заболевания в два раза выше по сравнению с аналогичным показателем у здоровых детей [2]. У 65% больных с кальциевым нефролитиазом и у 70% пациентов с гиперкальциурией наследственность отягощена по мочекаменной болезни [7].

Гиперкальциурия, гипероксалурия и гипоцитратурия считаются наиболее важными факторами риска мочекаменной болезни. Из всех нарушений состава мочи чаще всего при мочекаменной болезни отмечается гиперкальциурия, она наблюдается у 40-50% больных, при образовании кальциевых конкрементов — в 50-70% случаев. Преобладание кальциевых камней подтверждено как в отдельных наблюдениях, так и в широких клинических испытаниях. Если все случаи мочекаменной болезни принять за 100%, то 80% будут составлять кальциевые камни, 5-10% — мочекислые, 1-3% — цистиновые и 5-15% — струвитные. Среди кальциевых камней 85-90% приходится на оксалатно-кальциевые, 1-10% — на фосфатно-кальциевые и 5% — на оксалат или фосфат кальция в сочетании с мочевой кислотой [1-4].

Причины нефрокальциноза разнообразны. В патогенезе нефрокальциноза наиболее важная роль отводится первичной и вторичной гиперкальциурии. Повышенная экскреция кальция сопровождается его накоплением в почечном эпителии, дистрофическими изменениями клеток канальцев с последующим отложением кальция в интерстициальном пространстве или просвете канальцев. Кальциевые депозиты в интерстиции почек вызывают лимфопролиферативную реакцию с последующим нефросклерозом [2].

Гиперкальциурией принято считать экскрецию кальция с мочой более 4 мг/кг/сут или Ca/Cr коэффициент — более 0,7 ммоль/ммоль. Экскреция кальция с мочой у детей варьирует в различных популяциях и зависит от возраста, региональных особенностей и этнической/расовой принадлежности. Согласно проведенным исследованиям, в России частота гиперкальциурии составила в среднем у детей 10,9%, у взрослых — 5-10% [3-5].

Причинами гиперкальциурии в свою очередь могут быть: идиопатическая (первичная) гиперкальциурия, гиперпаратиреозидизм, гипертиреозидизм, интоксикация витамином D, резорбция костной ткани при иммобилизации и переломах, гипофосфатемия, синдром Иценко — Кушинга, злокачественные новообразования, дистальный ренальный

тубулярный ацидоз, синдром Барттер, болезнь Дента, болезнь Вильямса, гипофосфатазия и др. При этом наиболее часто в детской практике наблюдается идиопатическая (первичная) гиперкальциурия [2-5].

Идиопатической (первичной) гиперкальциурией принято считать повышенную экскрецию кальция с мочой на фоне нормокальциемии при отсутствии видимых причин. Предполагается гетерогенность наследования и многофакторность развития идиопатической гиперкальциурии. В качестве этиопатогенетических факторов рассматриваются нарушения метаболизма витамина D, изменение чувствительности рецепторов к кальцитриолу [6, 12, 13], мутации гена кальциевого рецептора, приводящие к активации рецепторного белка [8, 14, 5], нарушения процессов реабсорбции кальция в канальцах почек [16-20].

Выделяют несколько различных типов идиопатической гиперкальциурии: абсорбтивный I, II и III типов и ренальный. Гиперкальциурия абсорбтивного типа обусловлена повышенной абсорбцией кальция в кишечнике, выделяют гиперкальциурию III типа, связанную с первичным нарушением реабсорбции фосфатов в почках [6, 12, 21, 22]. Ренальная гиперкальциурия обусловлена специфическим дефектом канальцев, ведущим к повышению экскреции кальция с мочой. У детей с ренальным типом гиперкальциурии уровень кальция в суточной моче не имеет прямой зависимости от содержания кальция в пище, не нормализуется при соблюдении диеты с низким содержанием кальция [17-19].

Установлено, что одной из причин ренальной гиперкальциурии является нарушение парацеллюлярной реабсорбции кальция в толстом восходящем отделе петли Генле, обусловленное мутацией гена клаудина-16. Claudin-16 (CLDN16) — белок плотных межклеточных контактов, играет важнейшую роль в регулировании парацеллюлярной барьерной проницаемости для ионов кальция и магния. Claudin-16 находится в основном в почках, в частности в толстой восходящей ветви петли Генле. Ген *CLDN16* находится на хромосоме 3q28, состоит из 5 экзонов, кодирует белок из 305 аминокислотных остатков размером 33836 Да. Обнаружен ряд мутаций гена *CLDN16* (*TYR277TER*, *THR303ARG*, *LYS275TER*, *LEU151PRO*, *LEU145PRO*, *LEU151TRP*, *GLY191ARG*, *LEU151PHE*, *GLY198ASP*, *MET71ARG*, *LEU167PRO*, *PHE232CYS*, *GLY233ASP*, *SER235PHE* и др.), которые приводят к нарушению функции данного белка [16, 17, 19, 20]. У лиц гомозиготных по данным мутациям развивается семейная гипомagneзиемия с гиперкальциурией и нефрокальцинозом — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, при котором отмечаются выраженная гиперкальциурия, нефрокальциноз, нефролитиаз, полиурия и полидипсия, прогрессирующее снижение функций почек [3]. При гетерозиготном наследовании мутаций гена *CLDN16* имеется повышенный риск развития мочекаменной болезни [19]. Мутации в разных сайтах гена *CLDN16* могут привести к определенным фенотипам с различной тяжестью клинических проявлений и прогнозом, так при идиопатической гиперкальциурии повышена частота гомозиготных лиц по миссенс-мутации *THR303ARG* в гене *CLDN16* [17, 19].

Установлено наличие полиморфизма гена почечного белка плотных контактов клаудина-14 (*CLDN14*) rs219780, ассоциированного с развитием мочекаменной болезни и снижением минеральной



плотности костной ткани в области позвоночника и бедра, что повышало риск развития переломов [18, 20]. Снижение средней минеральной плотности костной ткани на 5-15% у больных мочекаменной болезнью с гиперкальциурией, по сравнению с пациентами без гиперкальциурии отмечалось и другими авторами. Причем потеря костной ткани увеличивалась, если пациенты находились на диете с ограничением кальция [23, 24].

В настоящее время известно, что одной из причин гиперкальциурии является уменьшение реабсорбции кальция через почечные апикальные кальциевые каналы TRPV5 и TRPV6. Катионные каналы TRPV5 и TRPV6 являются кальциевыми селективными ванилоидными мембранными каналами, которые обеспечивают строго дозированное поступление кальция и участвуют в реабсорбции ионов кальция в дистальных канальцах почек, тонком кишечнике и плаценте. Известно, что белки TRPV5 и TRPV6 состоят примерно из 730 аминокислот, имеют 6 трансмембранных сегментов и длинные цитоплазматические N- и C-хвосты. Каналы имеют тетрамерную стехиометрию, кроме того, обнаружено, что они способны формировать гетеротетрамерные комплексы, включающие субъединицы обоих каналов TRPV5 и TRPV6. Ген *TRPV6* находится в 7 хромосоме в позиции 34 и состоит из 15 экзонов и 14 интронов. Ионные каналы TRPV6 и TRPV5 являются одним из основных регуляторов гомеостаза кальция. В настоящее время установлена потенциальная связь каналов TRPV5 и TRPV6 с различными заболеваниями, в том числе и мочекаменной болезнью [25-27].

Предполагается, что генетические механизмы, контролирующие всасывание оксалатов в кишечнике лежат в основе идиопатической гипероксалурии и оксалатного уролитиаза. Существует предположение, что анионный транспортер *SLC26A6* имеет значимую роль в кишечной абсорбции оксалата, тем самым регулирует концентрацию оксалата в сыворотке крови, препятствуя гипероксалурии и образованию камней оксалата кальция в почках. Ген анионного транспортера *SLC26A6* находится на хромосоме 3p21.3, кодирует белок, состоящий из 738 аминокислот и в основном экспрессируется в почках, кишечнике и поджелудочной железе. Исследования показали, что у мутантных мышей, лишенных *SLC26A6*, повышена частота образования оксалатных камней в почках. Патологическим механизмом является гиперабсорбция оксалата в кишечнике. Предполагается, что мутация гена анионного транспортера *SLC26A6* имеет вклад в развитие мочекаменной болезни [9, 28].

Вопросы профилактики, ранней диагностики уролитиаза и нефрокальциноза остаются на сегодняшний день открытыми. Последние исследования показали наличие генетической предрасположенности к данному заболеванию, однако специфические генетические и эпигенетические факторы, обуславливающие развитие патологического процесса, остаются не совсем ясными. При этом выявление риска развития, ранняя диагностика различных форм уролитиаза и нефрокальциноза на основе генетического тестирования имеет несомненное практическое значение для предупреждения заболевания, развития вторичных осложнений с нарушением функций почек у детей.

Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование 56 детей в возрасте от 1 до 16 лет (5 — 44,6% дево-

чек и 31 — 55,4% мальчик): у 22 из них диагностирован нефрокальциноз, у 11 — нефролитиаз на фоне гиперкальциурии, у 23 наблюдалась гиперкальциурия без образования конкрементов и кальцинатов в органах мочевой системы. Из них 2. Контрольную группу составили 57 практически здоровых детей того же возраста, из них 30 (52,6%) девочек и 27 (47,4%) мальчиков. Из основной группы были исключены больные с вторичной гиперкальциурией, наследственными заболеваниями обмена веществ и наследственными тубулопатиями.

Проведен анализ ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs4987667 *G1132A Val 378Met* гена *TRPV6*, rs4987682 *C2042T Thr681Met* гена *TRPV6*, rs4987657 *T469C Cys157Arg* гена *TRPV6* с развитием гиперкальциурии, уролитиаза и нефрокальциноза у детей. Также проведен анализ ассоциации полиморфизма rs104893723 *G593A Gly198Asp* гена *CLDN16* и полиморфизма rs13324142 *G616A Val-185Met* гена *SLC26A6* с риском развития заболевания у 33 детей с уролитиазом и нефрокальцинозом на фоне гиперкальциурии, 16 детей с гиперкальциурией и 57 детей контрольной группы.

Генотипирование по полиморфному локусу осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием аллель-специфичных праймеров. Праймеры подбирались с помощью компьютерной программы WASP [<http://bioinfo.biotech.or.th/WASP>].

Для исследования минеральной плотности кости (МПК) использован метод количественной ультразвуковой сонометрии прибором Omnisense-7000, в двух точках — лучевой и большеберцовой кости и метод рентгеновской денситометрии (DEXA) прибором DTX-200, зона исследования — дистальный отдел предплечья. Содержание минерала кости оценивали по Z-критерию (Z-score) в величинах стандартного отклонения (SD) от возрастной нормы: нормальная МПК при Z-score более -1 SD; снижение (остеопения) — при Z-score менее -1 SD, выраженная остеопения — при снижении Z-score менее -2,5 SD. Уровень костного метаболизма оценивался по активности маркеров костеобразования и костной резорбции крови: общей щелочной фосфатазы и костного изофермента щелочной фосфатазы, тартратрезистентной кислой фосфатазы.

С целью исключения вторичной гиперкальциурии определялся уровень паратгормона в крови, кислотно-щелочное состояние крови. Характер дизметаболических нарушений уточнялся по характеру кристаллурии, почечному клиренсу и экскреции кальция, фосфатов, калия, натрия, суточной экскреции оксалатов и мочевой кислоты, аммиака, титруемой кислотности мочи, уровню урикемии. Определение биохимических параметров проводилось на биохимическом анализаторе Beckman Coulter Synchron CX 5 PRO.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программного обеспечения MS Excel 2010 [Microsoft, 2010]. Для описания данных использовали построение доверительных интервалов для истинных долей на основании биномиального распределения. Для нахождения верхних и нижних границ интервала использовали график 95% доверительных интервалов для долей. Доверительные интервалы использовали в качестве критериев значимости для сравнения частот аллелей и генотипов ($P < 0,05$).



Таблица 1.
Показатели метаболических процессов у детей с гиперкальциурией (M±m)

Показатели	Основная группа	Контроль	Достоверность Р
Са крови, мг, %	9,38±0,14	9,5±0,09	
Са мочи, мг/кг/сут	4,05±0,35	0,89±0,08	p<0,001
Клиренс Са, мл/мин х 1,73 м ²	0,8±0,07	0,34±0,03	p<0,01
Экскретируемая фракция Са, %	0,6±0,08	0,33±0,03	p<0,05
Р крови, мг, %	4,92±0,19	4,0±0,08	
Р мочи, мг/кг/сут	9,44±0,76	7,39±0,64	p<0,01
Клиренс Р, мл/мин х 1,73 м ²	9,9±0,55	6,37±0,44	p<0,05
Экскретируемая фракция Р, %	7,4±0,69	6,14±0,44	
Мочевая к-та крови, ммоль/л	0,26±0,01	0,25±0,01	
Щавелевая к-та мочи, мкмоль/сут	233,1±56,5	130,8±8,9	p<0,01
Аммиак мочи, ммоль/сут	50,8±4,5	35,8±2,12	p<0,01
Титр. кислотность мочи, ммоль/сут	53,3±3,53	48,25±1,89	
Этаноламин крови, ммоль/л	0,3±0,07	0,17±0,01	p<0,01
Этаноламин мочи, ммоль/сут	1,9±0,45	0,366±0,03	p<0,01
Фосфолипиды мочи, ммоль/сут	2,79±1,82	0	p<0,01

Таблица 2.
Минеральная плотность кости и биохимические маркеры костного метаболизма у детей с гиперкальциурией

Параметры	ВМС Z-score от -1 до -2,5 SD	ВМС Z-score менее -2,5 SD	ВМС Группа сравнения Z-score>-1
Пол: мальчики	9 (29%)	7 (22,6%)	15 (48%)
Пол: девочки	7 (28%)	2(8%)	16 (64%)
Щелочная фосфатаза, ЕД/л	266,47±39,7	305,85±33,9	241,41±21,5
Костный изофермент щелочной фосфатазы, ЕД/л	80,11±12,54	108,89±12,2	85,37±9,85
Тартратрезистентная кислая фосфатаза, ЕД/л	4,31±1,28	5,66±1,38	3,48±1,10

Примечание: ВМС — содержание минерала кости (г)

Результаты исследования и обсуждение

Анализ симптомокомплекса заболевания показал, что у детей с нефролитиазом наиболее часто встречались жалобы на боли в поясничной области — 7 (63,6%), рецидивирующие боли в животе — 8 (72,7%), осадок в моче — 7 (63,6%), патозность век — 7 (63,6%), болезненные мочеиспускания — 3 (27,3%). У детей с нефрокальцинозом субъективных жалоб, кроме пастозности век у 15 (68%) больных, не отмечалось.

На основании данных анамнеза и клинического обследования выделены основные факторы риска, способствующие формированию нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией:

1. Наследственная отягощенность по обменным заболеваниям: уролитиаз — 18 (54,5%), желчнокаменная болезнь — 9 (27,3%), остеохондроз — 18 (54,5%), сахарный диабет — 9 (27,3%), заболевание щитовидной железы — 9 (27,3%).

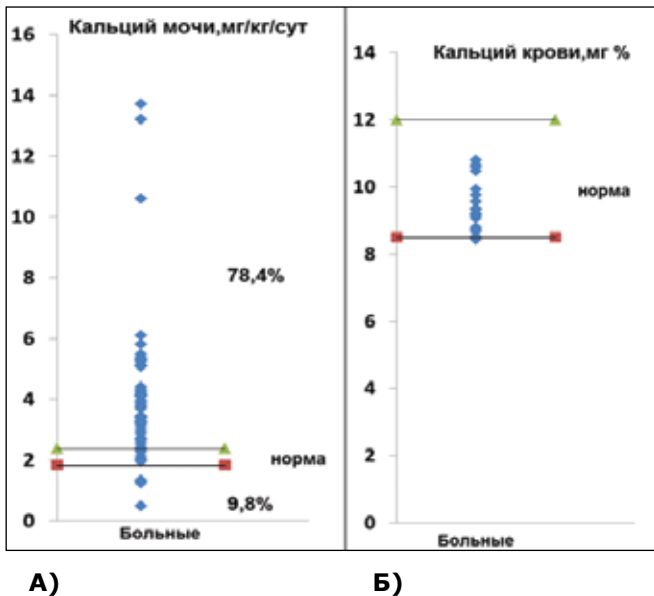
2. Патология перинатального периода: гестоз — 18 (54,5%), угроза прерывания — 12 (36,4%), анемия во время беременности — 15 (45,5%), синдром дыхательных расстройств у новорожденного — 12 (36,4%).

3. Искусственное вскармливание — 21 (63,6%), с ранним введением в рацион неадаптированных молочных продуктов — 12 (36,4%).

4. Заболевание желудочно-кишечного тракта — 30 (90,9%).

Рисунок 1.

Распределение пациентов в зависимости от концентрации кальция в сыворотке крови (А) и в моче (Б) в группе больных с гиперкальциурией



5. Синдром недифференцированной соединительнотканной дисплазии. Повышенный уровень (более 6) стигм дисэмбриогенеза — 33 (100%).

6. Дефицит массы тела I-II ст. — 15 (45,5%).

Анализ мочевого синдрома у больных нефролитиазом выявил, что преобладающим явилось наличие микрогематурии — 8 (72,7%), незначительной протеинурии (менее 500 мг/л) — у 7 (63,6%), кристаллурии оксалатного — у 7 (63,6%), смешанного характера — у 4 (36,4%). У больных с нефрокальцинозом изменения в анализах мочи наблюдались реже и проявлялись, в основном, в виде незначительной протеинурии у 13 (59%), кристаллурии оксалатного и смешанного характера — у 10 (45,5%) больных.

Средний уровень экскреции ($p < 0,001$), клиренса ($p < 0,01$) и экскретируемой фракции ($p < 0,05$) кальция был достоверно выше у детей с гиперкальциурией, по сравнению с контрольной группой, при нормальной концентрации кальция в крови (Табл. 1,

рис. 1). В группе больных детей суточная экскреция оксалатов с мочой была достоверно выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). У детей с гиперкальциурией выявлен повышенный уровень маркеров нестабильности цитомембран в крови и моче: этаноламина и фосфолипидов ($p < 0,01$).

Исследование функциональных проб почек не выявило нарушения фильтрационной и концентрационной функций почек у детей с нефрокальцинозом и нефролитиазом. Суточная экскреция аммиака, титруемая кислотность мочи были достоверно выше у детей с гиперкальциурией по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$).

У 22 (39,3%) детей с гиперкальциурией, по данным УЗИ почек, обнаружен нефрокальциноз различной степени выраженности, в 11 (19,6%) случаях — конкременты в чашечно-лоханочной системе. У большинства детей с нефролитиазом 7 (63,6%) конкременты были с одной стороны, у 4 (36,4%) — с обеих сторон от 1 до 3, в диаметре от 2 до 6 мм. У 7 (63,6%) больных нефролитиазом наблюдались anomalies строения почек (удвоение чашечно-лоханочной системы, неполная ротация почки, пиелоктазия, нефроптоз I-II ст.), у 15 (27%) — признаки нейрогенной дисфункции мочевого пузыря.

При исследовании минеральной плотности кости у детей с гиперкальциурией остеопения наблюдалась в 25 (45%) случаях — у 16 (52%) мальчиков и 9 (36%) девочек, причем у 9 (16%) пациентов она была выраженной. У больных с остеопенией обнаружено повышенное содержание в крови биохимических маркеров усиленного метаболизма костной ткани — щелочной фосфатазы и ее костного изофермента, тартратрезистентной кислоты фосфатазы, при выраженной остеопении маркеры ремоделирования кости имели самые высокие значения (табл. 2).

Наиболее негативными последствиями дефицита минеральной плотности кости являются переломы. Переломы костей в анамнезе имели 3 (33%) детей с выраженной остеопенией, 5 (31%) — с умеренной остеопенией и 7 (22%) — без остеопении. Однако у пациентов с остеопенией двух- и трехкратные переломы наблюдались в 3 раза чаще, чем у детей группы сравнения (5 (20%) и 2 (6,5%) соответственно).

Проведенный анализ ассоциации полиморфных маркеров C/T в положении 2042 Thr681Met гена TRPV6 с развитием гиперкальциурии, уролитиаза и нефрокальциноза у детей выявил увеличение

Таблица 3.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs4987682 гена TRPV6 среди детей с гиперкальциурией и контрольной группой

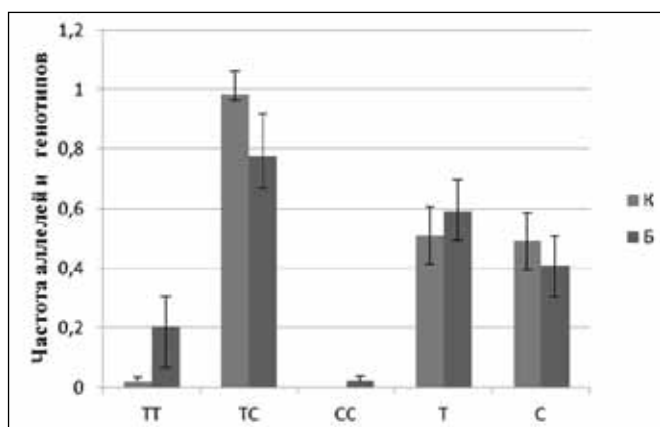
Аллели и генотипы	Дети с гиперкальциурией		Контрольная группа	
	частота	95%ДИ	частота	95%ДИ
ТТ	0.204	0.104-0.304	0.018	0-0.05
ТС	0.776	0.67-0.882	0.982	0.948-1.01
СС	0.02	0-0.06	-	-
Т	0.592	0.472-0.7	0.509	0.414-0.604
С	0.408	0.35-0.47	0.491	0.371-0.611

Примечание: 95%ДИ — 95% доверительный интервал



Рисунок 2.

Распределение частот генотипов по полиморфизму rs4987682 гена TRPV6 среди детей с гиперкальциурией и контрольной группой



частоты гомозиготного генотипа по T-аллелю (TT-генотипа) в группе детей с гиперкальциурией по сравнению с группой условно здоровых, а частота гетерозиготных лиц по G-аллелю, напротив, увеличена в контрольной группе. Полученные данные приведены в табл. 3 и на рис. 2.

Изучение распределения аллелей и генотипов полиморфных маркеров G/A в положении 1132 Val/378Met гена TRPV6 у больных нефролитиазом, нефрокальцинозом на фоне гиперкальциурии и контрольной группой показало увеличение частоты гомозигот по аллелю A в группе больных с гиперкальциурией по сравнению с группой условно здоровых, а частота генотипа AG, напротив, увеличена в контрольной группе (табл. 4, рис. 3).

Не удалось установить наличие ассоциаций по полиморфизмам rs4987657 Cys157Arg гена TRPV6 и rs104893723 Gly198Asp гена CLDN16 с риском развития нефролитиаза и нефрокальциноза на фоне гиперкальциурии. Генотипы больных с гиперкальциурией и контрольной группы были представлены единым генотипом CC и GG соответственно. Полученные данные приведены в табл. 5.

При проведении сравнения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs13324142 Val/185Met гена

Рисунок 3.

Распределение частот генотипов по полиморфизму rs4987667 гена TRPV6 у детей с гиперкальциурией и контрольной группой

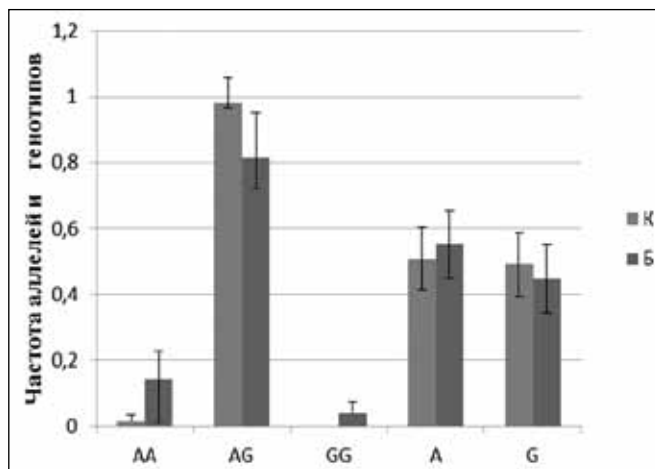
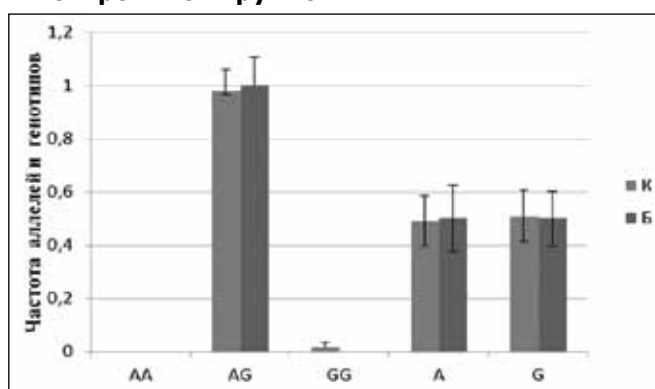


Рисунок 4.

Распределение частот генотипов по полиморфизму rs13324142 гена SLC26A6 среди больных нефролитиазом, нефрокальцинозом и контрольной группой



SLC26A6 не было выявлено достоверных различий между больными нефролитиазом, нефрокальцинозом на фоне гиперкальциурии и детьми контрольной

Таблица 4.

Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфизму rs4987667 гена TRPV6 среди детей с гиперкальциурией и контрольной группой

Аллели и генотипы	Дети с гиперкальциурией		Контрольная группа	
	частота	95%ДИ	частота	95%ДИ
AA	0.143	0.054-0.232	0.018	0-0.05
AG	0.816	0.716-0.916	0.982	0.948-1.01
GG	0.041	0-0.091	-	-
A	0.551	0.411-0.691	0.509	0.389-0.63
G	0.449	0.379-0.519	0.491	0.389-0.586

Примечание: 95%ДИ — 95% доверительный интервал

Таблица 5.

Распределение частот аллелей и генотипов по полиморфизму rs4987657 гена *TRPV6* и rs104893723 гена *CLDN16* у детей с гиперкальциурией и контрольной группой

ГЕН	Аллели и генотипы	Дети с гиперкальциурией		Контрольная группа	
		частота	95%ДИ	частота	95%ДИ
TRPV6	ТТ	-	-	-	-
	ТС	-	-	-	-
	СС	1	1	1	1
	Т	-	-	-	-
	С	1	1	1	1
CLDN16	AA	-	-	-	-
	AG	-	-	-	-
	GG	1	1	1	1
	A	-	-	-	-
	G	1	1	1	1

Примечание: 95%ДИ — 95% доверительный интервал

Таблица 6.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs13324142 гена *SLC26A6* среди больных нефролитиазом, нефрокальцинозом и контрольной группой

Аллели и генотипы	Больные нефролитиазом, нефрокальцинозом		Контрольная группа	
	частота	95%ДИ	частота	95%ДИ
AA	-	-	-	-
AG	1	1	0.982	0.948-1.01
GG	-	—	0.017	0-0.04
A	0.5	0.36-0.64	0.491	0.371-0.611
G	0.5	0.36-0.64	0.508	0.38-0.63

Примечание: 95%ДИ — 95% доверительный интервал

группы, что свидетельствовало об отсутствии ассоциации с риском развития заболевания (табл. 6, рис. 4).

Выводы

1. Наследственный фактор играет важную роль в развитии нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией: более чем у половины больных (54,5%) наследственность была отягощена по мочекаменной болезни, а также по другим заболеваниям обмена веществ. Предрасполагающими факторами к развитию нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией являлись: патология перинатального периода, заболевания желудочно-кишечного тракта, синдром недифференцированной дисплазии соединительной ткани. У большинства больных нефролитиазом (63,6%) наблюдались различные аномалии строения почек, у трети — нейрогенная дисфункция мочевого пузыря (27%).

2. У детей с гиперкальциурией увеличение экскреции кальция с мочой было обусловлено увеличением его экскретируемой фракции, то есть снижением реабсорбции в канальцах. При этом со-

держание кальция в крови находилось в пределах нормальных значений.

3. При исследовании минеральной плотности кости у детей с гиперкальциурией остеопения наблюдалась в 45% случаях. Увеличение в сыворотке крови костного изофермента щелочной фосфатазы и кислой фосфатазы отражало равную степень выраженности как процессов костной резорбции так и костеобразования.

4. Снижение минеральной плотности кости у детей с гиперкальциурией повышало риск развития переломов. Переломы костей в анамнезе имели треть детей с остеопенией, двух- и трехкратные переломы наблюдались в 3 раза чаще, чем у детей группы сравнения.

5. С риском развития нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией ассоциирован полиморфизм гена *TRPV6*. Предрасполагающими являлись гомозиготный генотип по Т-аллелю (ТТ) полиморфизма rs4987682 C2042TThr681Met гена *TRPV6* и генотип АА полиморфизма rs4987667 G1132AVal378Met гена *TRPV6*.



6. Показано отсутствие ассоциации полиморфного локуса rs104893723 *Gly198Asp* гена *CLDN16* и

rs13324142 *Val185Met* гена *SLC26A6* с риском развития нефролитиаза и нефрокальциноза у детей с гиперкальциурией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляев Ю.Г. Мочекаменная болезнь. Современные методы диагностики и лечения. — 2012. — С. 38-42.
2. Длин В.В., Османов И.М., Новиков П.В., Юрьева Э.А. Дismetabolическая нефропатия, мочекаменная болезнь и нефрокальциноз у детей. — М.: Оверлей, 2005. — 232 с.
3. Лойманн Э., Цыгин А.Н., Саркисян А.А. Детская нефрология. Практическое руководство. — М.: Литтерра. — 2010. — 390 с.
4. Малкоч А.В. Дismetabolические нефропатии и мочекаменная болезнь // Нефрология детского возраста: Практическое руководство по детским болезням. — М.: Медпрактика-М, 2005. — Т. 6. — С. 472-516.
5. Сергеева Т.В., Картамышева Н.Н. Диагностические аспекты нефролитиаза и нефрокальциноза // Вопросы диагностики в педиатрии. — 2009. — № 4. — С. 20-23.
6. Bid H.K. Association of Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphism (Fok-I) with Calcium oxalate Nephrolithiasis / Kumar A., Kapoor R., Mittal R.D. // J of Endourology. — 2005. — Vol. 19. — P. 111-115.
7. Carla G. Genetic determinants of urolithiasis / Monico and Dawn S. Milliner // 2012. — Vol. 8. — P. 151.
8. Park S.Y., Mun H.C., Eom Y.S., Baek H.L., Jung T.S., Kim C.H. et al. Identification and characterization of D410E, a novel mutation in the loop 3 domain of CASR, in autosomal dominant hypocalcemia and a therapeutic approach using a novel calcilytic, AXT914 // Clin Endocrinol (Oxf). May 2013;78(5):687-93.[Medline].
9. Chernova M.N., Jiang L., Friedman D.J., Darman R.B., Lohi H., Kere J., Vanderpe D.H., Alper S.L. Functional comparison of mouse *slc26a6* anion exchanger with human *SLC26A6* polypeptide variants: differences in anion selectivity, regulation, and electrogenicity // J. Biol. Chem. 280:8564-8580,2005.
10. Giuffre M., La Placa S., Carta M., Cataliotti A., Marino M., Piccione M., Pusateri F., Meli F., Corsello G. Hypercalciuria and kidney calcifications in terminal 4q deletion syndrome: further evidence for a putative gene on 4q.Am // J. Med. Genet. 126A:186-190,2004.
11. Goodman H.O. Genes in idiopathic calcium oxalate stone disease / Brommage R., Assimos D.G., Holmes R.P. // World J Urol. — 1997. — Vol. 15. — P. 186-194.
12. Gunes S. Vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with urolithiasis / Bilen C.Y., Kara N., Asci R., Bagci H., Yilmaz A.F. // Urol Res. 2006. — Vol. 34. — P. 47-52.
13. Rendina D. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and fasting idiopathic hypercalciuria in recurrent stone-forming patients / Mossetti G., Viceconti R., Sorrentino M., Castaldo R., Manno G., Guadagno V., Strazzullo P., Nunziata V. // Urology — 2004. — Vol. 4. — P. 833-838.
14. Dimke H., Desai P., Borovac J., Lau A., Pan W., Alexander R.T. Activation of the Ca(2+)-sensing receptor increases renal claudin-14 expression and urinary Ca(2+) excretion // Am J Physiol Renal Physiol. — Mar 15,2013;304(6):F761-9. [Medline].
15. Vezzoli G., Terranegra A., Soldati L. Calcium-sensing receptor gene polymorphisms in patients with calcium nephrolithiasis // Curr Opin Nephrol Hypertens. — Jul 2012;21(4):355-61. [Medline].
16. Kausalya P.J., Amasheh S., Gunzel D., Wurps H., Muller D., Fromm M., Hunziker W. Disease-associated mutations affect intracellular traffic and paracellular Mg2+ transport function of claudin-16 // J. Clin. Invest. — 116:878-891,2006. [PubMed: 16528408, related citations] [Full Text: Journal of Clinical Investigation, Pubget].
17. Muller D., Kausalya P.J., Bockenhauer D., Thumfart J., Meij I.C., Dillon M.J., van't Hoff W., Hunziker W. Unusual clinical presentation and possible rescue of a novel claudin-16 mutation // J. Clin. Endocr. Metab. — 91:3076-3079, 2006. [PubMed: 16705067, related citations] [Full Text: HighWire Press, Pubget].
18. Thorleifsson G., Holm H., Edvardsson V., Walters G.B., Styrkarsdottir U., Gudjartsson D. F., Sulem P., Halldorsson B. V., de Vegt F., d'Ancona F.C.H., den Heijer M., Franzson L. and 12 others. Sequence variants in the *CLDN14* gene associate with kidney stones and bone mineral density // Nature Genet. — 41:926-930, 2009. [PubMed: 19561606, related citations] [Full Text: Nature Publishing Group, Pubget].
19. Weber S., Schneider L., Peters M., Misselwitz J., Ronnefarth G., Boswald M., Bonzel K.E., Seeman T., Sulakova T., Kuwertz-Broking E., Gregoric A., Palcoux J.-B., Tasic V., Manz F., Scharer K., Seyberth H.W., Konrad M. Novel paracellin-1 mutations in 25 families with familial hypomagnesemia with hypercalciuria and nephrocalcinosis // J. Am. Soc. Nephrol. — 12:1872-1881,2001. [PubMed: 11518780, related citations] [Full Text: HighWire Press, Pubget].
20. Morin P.J. Protein family review the claudins // Genome Biology. — 2009. — Vol. 10. — P. 235.
21. Reed B.Y., Gitomer W.L., Heller H.J., Hsu M.C., Lemke M., Padalino P., Pak C.Y.C. Identification and characterization of a gene with base substitutions associated with the absorptive hypercalciuria phenotype and low spinal bone density // J. Clin. Endocr. Metab. — 87:1476-1485, 2002.
22. Reed, B. Y., Heller, H. J., Gitomer, W. L., Pak, C. Y. C. Mapping a gene defect in absorptive hypercalciuria to chromosome 1q23.3-q24. J. Clin. Endocr. Metab. 84: 3907-3913, 1999.
23. Moreira Guimarães Penido MG, de Sousa Tavares M, Campos Linhares M, Silva Barbosa AC, Cunha M. Longitudinal study of bone mineral density in children with idiopathic hypercalciuria. PediatrNephrol. Jan 2012;27(1):123-30. [Medline].
24. Zerwekh JE. Bone disease and hypercalciuria in children. PediatrNephrol. Mar 2010;25(3):395-401.[Medline].
25. Suzuki, M., Ohki, G., Ishibashi, K., Imai, M. A single amino acid mutation results in a rapid inactivation of epithelial calcium channels. Biochem. Biophys. Res. Commun. 291: 278-285, 2002. [PubMed: 11846401, related citations] [Full Text: Elsevier Science, Pubget].
26. Hoenderop J. G. J., Voets T., Hoefs S., Weidema F., Prenen J., Nilius B., Bindels R. J. M. 2003. Homo- and heterotetrameric architecture of the epithelial Ca2+ channels TRPV5 and TRPV6. EMBO J. 22: 776-785.
27. Nijenhuis T., Hoenderop J. G., Bindels R. 2005. TRPV5 and TRPV6 in Ca2+ (re)absorption: regulating Ca2+ entry at the gate. PflugersArch. 451: 181-192.
28. Jiang, Z., Asplin, J. R., Evan, A. P., Rajendran, V. M., Velazquez, H., Nottoli, T. P., Binder, H. J., Aronson, P. S. Calcium oxalate urolithiasis in mice lacking anion transporter *Slc26a6*. Nature Genet. 38: 474-478, 2006.
29. Yoo J. SNPAnalyzer: a web-based integrated workbench for single-nucleotide polymorphism analysis. / Seo B., Kim Y. // Nucleic Acids Research. — 2005. — Vol. 33. — P. 483-488.