

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
МЕДИЦИНСКИЙ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ
ФАКУЛЬТЕТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

На правах рукописи

Савилов Александр Викторович

**Роль молекулярно-генетических факторов в прогнозировании
рецидива кальций-оксалатного уролитиаза**

3.1.13. Урология и андрология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
зав. кафедрой урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины
МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова Камалов Армаис Альбертович

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1 Эпидемиологические аспекты мочекаменной болезни	15
1.2 Исторические и экономические аспекты изучения мочекаменной болезни	16
1.3 Механизмы и причины камнеобразования в почках	18
1.4 Роль бляшек Рэндалла в патогенезе уролитиаза.....	24
1.5 Метаболический синдром и уролитиаз	26
1.6 Ингибиторы и промоутеры камнеобразования.....	28
1.7 Генетические факторы в патогенезе уролитиаза	29
1.7.1 Ген рецептора фактора некроза опухолей 11Б или остеопротегерина (TNFRSF11B).....	29
1.7.3 Ген кальций-чувствительного рецептора (CaSR).....	32
1.7.4 Ген альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (ESR1)	33
1.7.5 Ген Клото (KL).....	33
1.7.6 Ген Клаудин-14 (CLDN14).....	34
1.7.7 Другие гены, оказывающие влияние на камнеобразование: ген кальций релиз-активированного протеина кальциевых каналов 1 (ORAI1), ген натрий-зависимого фосфатного транспортного белка 2A (SLC34A1), ген гамма-диацилглицеролкиназы (DGKH), ген аквапорина 1 (AQP1), ген уромодулина (UMOD), ген остеопонтина (OPN) и ген урокиназного активатора плазминогена PLAU.....	35
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1 Клинико-статистическая характеристика исследуемых пациентов.....	38
2.2 Критерии включения и исключения	39

2.3 Процедура включения пациентов в исследование.....	40
2.4 Дизайн исследования и методы обследования.....	47
2.5 Определение полиморфизма исследуемых генов	49
2.6 Определение сывороточных концентраций остеопротегерина	52
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	54
3.1 Результаты клинического, лабораторного, инструментального обследования пациентов исследуемых групп	54
3.2 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования	61
3.2.1 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №1	62
3.2.2 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №2	72
3.2.3 Сравнение результатов молекулярно-генетического исследования в группах наблюдения №1 и №2	81
3.2.4 Сравнение результатов молекулярно-генетического исследования в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе.	85
3.3.1 Результаты исследования уровня сывороточного остеопротегерина у пациентов в группах сравнения.....	88
3.3.2 Результаты исследования уровня сывороточного остеопротегерина у пациентов в группах сравнения в зависимости от факторов риска	92
3.4 Интегральная модель оценки течения рецидивирующего кальций- оксалатного уролитиаза и прогнозирования развития рецидива	93
3.5 Наблюдение за пациентами	95
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	98
4.1 Обсуждение результатов генотипирования	98

4.2 Обсуждение результатов определения сывороточного остеопротегерина	
.....	100
4.3 Прогностические возможности уровня сывороточного остеопротегерина	
.....	102
4.4 Ограничения и перспективы использования результатов	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	107
БИБЛИОГРАФИЯ	110
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	122

ВВЕДЕНИЕ¹

Актуальность темы исследования

Мочекаменная болезнь (МКБ) – это системная болезнь, в основе патогенеза которой лежит нарушение метаболизма и различные внешние факторы, а результатом воздействия данных факторов является образование конкрементов в почках [7]. МКБ широко распространена во всем мире. Заболеваемость мочекаменной болезнью колеблется от 7 до 13% в Северной Америке, от 5 до 9% в Европе и от 1 до 5% в Азии [106]. Существуют лишь несколько мест в мире, где не регистрировались случаи МКБ – это прибрежные районы Японии и Гренландия [3]. Отмечается прогрессивный рост заболеваемости МКБ в мире: за последние три десятилетия, а именно с 1990 по 2019 гг., рост составил 48,57%. В это же самое время произошло и увеличение смертности, связанной с МКБ, которое равняется 17,12% [45]. Если обратиться к статистическим данным в области урологических заболеваний в Российской Федерации (РФ), то МКБ по распространенности занимает третье место, уступая лишь инфекциям мочевых путей и заболеваниям предстательной железы. Данная статистика соответствует структуре заболеваемости в мире. При детальном рассмотрении заболеваемости МКБ в РФ с 2005 по 2019 гг. отмечен прирост последней на 35,45%. Такая же тенденция сохранялась и для пациентов с диагнозом, установленным впервые в жизни, с 2005

¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные соискателем в соавторстве, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Савилов, А.В. Новые генетические факторы рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 160-161 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.); Савилов, А.В. Остеопротегерин – перспективный маркер рецидива мочекаменной болезни / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 161-162 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.); Савилов, А.В. Наследственный фактор метафилактики мочекаменной болезни: современное состояние вопроса / А.С. Тивтикан, А.В. Савилов, Д.А. Охоботов [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, N 1. – С. 76–84 (1,04 п.л. / авторский вклад – 0,16 п.л.); Савилов, А.В. Роль генетических факторов в развитии рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн, Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, Е.В. Афанасьевская, В.Н. Мамедов, А.С. Шурыгина, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2022. – Т. 10, N 3. – С. 54-64 (1,27 п.л. / авторский вклад – 0,64 п.л.).

по 2019 гг. рост заболеваемости составил 14%. Снижение заболеваемости в 2020 г. можно связать с пандемией новой коронавирусной инфекцией, остановкой диспансеризации и перепрофилированием урологических отделений стационаров [3]. Среди всех урологических заболеваний, приводящих к инвалидизации, МКБ занимает одну из них из ведущих позиций, замыкая четверку лидеров с долей до 14,4%, причем у 76% из них - единственная почка, а 90% - люди трудоспособного возраста [55].

Самым распространенным по химическому составу видом конкрементов являются кальцийсодержащие, составляющие до 75% от всех видов, причем 50% из них относятся к кальций-оксалатным, 5% состоят из фосфата кальция и 45% относятся к смешанному варианту [37].

Несмотря на значительные успехи в оперативном лечении, МКБ характеризуется рецидивирующим и пожизненным характером. При отсутствии метафилактики, вероятность рецидива заболевания достигает от 10 до 23%, причем через 5-10 лет после манифестации она составляет уже 50%, а через 20 лет - 75% [106]. Учитывая эти особенности, МКБ тяжелым бременем ложится на бюджеты стран. Так в США ежегодный рост расходов на обследование и лечение пациентов с уролитиазом оценивается в 1,24 млрд долларов [109].

На сегодняшний день современные способы и стратегии метафилактики МКБ в значительной степени отстают от прогресса в оперативном лечении. Возможно, это связано с тем, что многочисленные факторы, приводящие к образованию конкрементов, в настоящее время недостаточно изучены. Не так давно появилась информация, что всемирная организация здравоохранения проинформировала общественность, что течение любой неинфекционной хронической нозологии зависит до 55% от образа жизни, до 25% от экологии, до 15% от генетики и системы здравоохранения [75]. Длительное время проводятся исследования по изучению генетических факторов при МКБ. Так ещё в XIX веке была выявлена семейная предрасположенность к заболеванию кальций-оксалатной формой уролитиаза [105]. В ряде исследований, проведенных в последние годы,

было выявлено, что наследуемость клинических форм МКБ у близнецов может достигать 56% [13]. Общая вероятность наследования МКБ у близких и более дальних родственников составляет от 15 до 65 процентов [75]. Для идентификации генетических факторов риска чаще всего применяется «genome-wide association study» – GWAS («полногеномный поиск ассоциаций») [8]. Данное исследование применяется в том числе и для МКБ, т.к. оно помогает выявить однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) различных генов, функционально связанных с манифестацией и рецидивом уролитиаза [8]. SNPs являются наиболее распространенными популяционно-зависимыми генетическими вариациями. Современные подходы к метафилактике МКБ включают проведение молекулярно-генетического исследования на предмет наличия SNPs, без которого персонализированный подход к пациентам с уролитиазом невозможен.

В мире за последнее десятилетие проведен ряд работ по поиску ассоциаций различных SNPs с развитием МКБ. Были изучены однонуклеотидные полиморфизмы следующих генов: рецептора витамина Д (VDR), Клото (KL), Клаудина 14 (CLDN14), Клаудина 16 (CLDN16), Клаудина 19 (CLDN19), альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (ESR), внеклеточного кальций-чувствительного рецептора (CASR), рецептора кальцитонина (CALCR), натрий-зависимого фосфатного транспортера (SLC34A) модулятора активатора высвобождения кальция 1 (ORAI1), рецептора фактора некроза опухолей 11Б (TNFRSF11B), фактора некроза опухолей 11 (TNFSF11), мембранного анионного транспортера семейства 26 (SLC26A6). Однако выявленные ассоциации с МКБ SNPs генов были различные, что связано с критериями отбора пациентов для основных групп, которые отличались в каждом исследовании: пациенты с установленным диагнозом МКБ, имеющие отягощенный по уролитиазу родственный анамнез, страдающие МКБ и имеющие множественные конкременты обеих почек, страдающие МКБ и имеющие одинаковый по химическому составу конкременты. Точкой приложения выше указанных генов является воздействие на обмен кальция. В нашем исследовании были изучены SNP в генах, влияющих на

гомеостаз кальция, с возможным последующим развитием рецидива МКБ: гена рецептора фактора некроза опухолей 11Б или остеопротегерина (rs3134057), гена альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (rs851982), ген рецептора витамина Д (rs1540339), ген кальций чувствительного рецептора (rs2202127), ген Клото (rs526906). Ген рецептора фактора некроза опухолей 11Б или остеопротегерина (TNFRSF11B, rs3134057) играет важную роль в метаболизме костной ткани, являясь рецептор-приманкой для RANKL (RANK/RANKL/OPG), участвует в ингибировании остеокластогенеза и костной резорбции [104]. Полиморфизм гена остеопротегерина может приводить к уменьшению минеральной плотности костной ткани, что, в свою очередь, может вызывать гиперкальциемию и гиперкальциурию [58]. Ген рецептора витамина D (VDR) также является одним из основных регуляторов гомеостаза кальция. Клетки VDR находятся в почках, кишечнике и костной ткани. В функциональном плане они взаимодействуют с VD3-зависимой экспрессией таких генов как: ген кальций-чувствительного рецептора, ген остеоопонтина и ген Клото. Действие этих клеток заключается в опосредованном влиянии на реабсорбцию кальция и фосфора путем через энтероциты и клетки почечных канальцев. При однонуклеотидном полиморфизме гена VDR (rs1540339) меняется степень выраженности проявлений данного гена и время его частичного разрушения [8]. Ген альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (ESR1) принимает активное участие в метаболизме костной ткани. Экспрессия ESR1 происходит на поверхности остеобластов, остеоцитов и остеокластов. ESR1 стимулирует синтез остеобластов и снижает костную резорбцию. При SNP ESR1 (rs851982) может происходить развитие явление остеопороза, что является фактором риска развития МКБ [52]. Ген кальций-чувствительного рецептора обладает максимальной экспрессией в паращитовидной железе и почечных канальцах. Его воздействие обусловлено ингибированием цАМФ в паращитовидной железе, что приводит к снижению экскреции фосфатов, а также уменьшением пассивной и активной реабсорбции кальция петле Генле [31, 50]. Ген Клото (Klotho) представляет собой β -глюкоронидазу, экспрессируется почками и участвует в гомеостазе кальция и

фосфора. При SNP ESR1 (rs526906) отмечается усиление синтеза белка Клото, повышение экскреции фосфатов и кальция почками [26].

В настоящий момент доказательная база генетических факторов, оказывающих влияние на патогенез МКБ в полном объеме не сформирована [8]. Изучение роли наследственных факторов при рецидивирующем уролитиазе представляет особый интерес для выявления новых способов метафилактики МКБ.

Предотвращение рецидивов или метафилактика уролитиаза в группах риска экономически оправданна и эффективна. В связи с этим в последние годы в мире одним из основных аспектов изучения проблемы мочекаменной болезни является поиск генетических факторов риска манифестации и рецидива.

Цель исследования

Выявить влияние молекулярно-генетических факторов, контролирующих кальциевый обмен, на развитие рецидива заболевания у пациентов с кальций-оксалатным уролитиазом.

Задачи исследования

1. Выявить полиморфные аллели и (или) генотипы генов: TNFRS11B (Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11B, или остеопротегерин; rs3134057), ESR1 (Estrogen receptor isoform 1; rs851982), VDR (Vitamin D receptor; rs1540339), CASR (Calcium-sensing receptor; rs2202127), KL (Klotho protein; rs526906), ассоциированные с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза.

2. Установить влияние комбинаций аллельных вариантов исследуемых генов и клинических показателей на риск развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза.

3. Определить влияние полиморфизма гена TNFRS11B (остеопротегерин; rs3134057) на показатели сывороточного остеопротегерина при рецидиве кальций-оксалатного уролитиаза.

4. Выявить связь рецидива кальций-оксалатного уролитиаза и концентрации сывороточного остеопротегерина в крови.

5. Определить прогностическую значимость использования сывороточного остеопротегерина в качестве маркера МКБ.

Научная новизна исследования

В ходе проведенного научного исследования был осуществлен поиск новых факторов, оказывающих влияние на появление рецидива мочекаменной болезни у пациентов с кальций-оксалатной формой данного заболевания. Впервые в Российской Федерации и в мире была изучена ассоциация между определенными однонуклеотидными полиморфизмами, выявленными у пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза и уровнем остеопротегерина в сыворотке крови.

В ходе исследования было выявлено, что однонуклеотидный полиморфизм гена остеопротегерина rs3134057, играющий главную роль в синтезе остеопротегерина, достоверно связан с появлением рецидива МКБ. А концентрация сывороточного остеопротегерина достоверно повышается у пациентов с кальций-оксалатной формой МКБ при развитии рецидива заболевания.

Теоретическая значимость исследования. Полученные результаты данного исследования возможно использовать при планировании последующих научных работ, которые направлены на поиск новых генетических вариаций у пациентов с МКБ и в том числе при кальций-оксалатной форме заболевания. Гетерозиготный вариант генотипа гена *TNFRS11B* rs3134057 возможно использовать в качестве фактора риска развития рецидивирующей формы кальций-оксалатного уролитиаза. Повышение уровня остеопротегерина в сыворотке крови может быть использовано в качестве маркера рецидива кальций-оксалатной формы уролитиаза.

Практическая значимость исследования. Рецидив кальций-оксалатного уролитиаза у пациентов с рецидивирующей формой заболевания достоверно связан с гетерозиготным вариантом генотипа гена ОПГ (rs3134057), что может быть использована для определения групп повышенного риска рецидива заболевания среди пациентов, страдающих данной формой МКБ. С учетом статистически

значимого повышения уровня остеопротегерина сыворотки крови при рецидиве кальций-оксалатной формы уролитиаза, данный показатель может применяться в качестве маркера рецидива заболевания. Использование ОПГ в качестве маркера рецидива кальций-оксалатного уролитиаза может улучшить показатели ранней диагностики рецидива заболевания и его лечения. Это может позволить снизить затраты системы здравоохранения на лечение поздно диагностированных и осложненных случаев рецидива МКБ, имеющих кальций-оксалатную природу конкрементов.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование является клиническим. Основную клиническую часть работы составляют итоги обследования и лечения пациентов с кальций-оксалатным уролитиазом, проходивших стационарное лечение в Университетской клиники МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова, ГБУЗ «ГКБ №31 им. Академика Г.М. Савельевой ДЗМ», ФКУ «ЦВКГ имени П.В. Мандрыка» Минобороны РФ с января 2021 года по январь 2022 года. Первоначально в исследование было включено 235 пациентов с МКБ, однако после уточнения анамнеза заболевания, проведения инструментальных и лабораторных методов обследования (в том числе инфракрасная спектроскопия с определением химического состава конкремента, УЗИ и МСКТ мочевыделительной системы), применения критериев включения и исключения в работе остался 101 пациент с кальций-оксалатной формой уролитиаза.

Лабораторные методы диагностики выполнялись на базе отдела лабораторной диагностики Университетской клиники МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова. Выявление однонуклеотидных полиморфизмов в изучаемых генах осуществлено при помощи метода ПЦР на устройстве Real-time CFX96 Touch. Для оценки уровней остеопротегерина в сыворотке применили иммуноферментный анализ с набором Human OPG ELISA kit ab100617 от компании «Abcam» (Кембридж, Великобритания), следуя инструкциям производителя.

Для статистической обработки собранных данных использовались программы SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания) и IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., США).

Личный вклад автора. Автором в координации с научным руководителем создан дизайн работы, определены цели и задачи исследования. Автором самостоятельно произведен отбор пациентов, сбор клинического материала, составлена база пациентов, организованы необходимые исследования, проведена систематизация, структуризация и анализ результатов. Самостоятельно изложено заключение научной работы: положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации.

Положения, выносимые на защиту, были изложены в научных статьях, опубликованных соискателем в соавторстве. В статье [6] автором проведен анализ ассоциации МКБ и генетических факторов, оказывающих влияние на синтез ряда гормонов, различных биологически активных молекул или факторов. Авторству соискателя принадлежат разделы статьи на с. 35-36. В статье [8] автор провел современную оценку наследственных факторов, оказывающих значительное влияние на манифестацию или рецидив МКБ. При подготовке главы 1 были использованы материалы из статьи [8]. Авторству соискателя принадлежат подразделы: «SNPs, влияющие на образование матрикса мочевых камней» (с. 77-79). В статье [11] автором изложены результаты генотипирования пациентов с кальций-оксалатным уролитиазом на предмет выявления однонуклеотидных полиморфизмов генов, влияющих на гомеостаз кальция в организме человека. Материалы из данной статьи были использованы для подготовки глав 1, 2, 3, 4 диссертации, а также в качестве обоснований положений, выносимых на защиту № 1 и 2. Авторству соискателя принадлежат разделы статьи на с. 56-57, с. 58-60. В статье [5] автором была проведена оценка концентрации остеопротегерина, как продукта гена остеопротегерина, у пациентов с кальций-оксалатным уролитиазом. Полученные данные были использованы для подготовки глав 1, 2, 3, 4 диссертации. Также материал из данной статьи использован в качестве обоснований положений,

выносимых на защиту № 3 и 4. Авторству соискателя принадлежат разделы статьи на с. 80-84.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Рецидивирующее течение кальций-оксалатного уролитиаза ассоциировано с наличием полиморфного варианта гена остеопротегерина (rs3134057).
2. Рецидивирующее течение кальций-оксалатного уролитиаза ассоциировано с наличием полиморфного варианта гена Клото (rs526906).
3. Отсутствует взаимосвязь между повышенной концентрацией остеопротегерина в сыворотке крови и наличием полиморфного варианта гена остеопротегерина (rs3134057), ассоциированного с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза.
4. При рецидиве кальций-оксалатного уролитиаза отмечается достоверное повышение уровня сывороточного остеопротегерина.

Связь с планом научно-исследовательских работ

Диссертационная исследовательская работа имела финансирование в рамках Государственного задания № 2020.0908.005.4 «Разработка перспективных технологий в урологии и андрологии на основе междисциплинарного подхода».

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов научной работы базируется на оптимальной для данного исследования объеме выборки пациентов, современных методах лабораторной диагностики, проведении самих исследований на экспертном уровне. Статистическая обработка и анализ полученных результатов осуществлен на качественном уровне с использованием программного обеспечения SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания) и IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., США).

Материалы диссертационной работы представлены на XX Конгрессе российского общества урологов, Москва, 2020; XXIII Конгрессе российского

общества урологов, Казань, 2023; XVII Конгрессе «Мужское здоровье», Сочи, 2021, XIX Конгрессе «Мужское здоровье», Сочи, 2023.

По результатам диссертационной работы увидело свет 4 статьи: 2 – в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международной базе Scopus, 2 – в журналах, включенных в перечень ВАК РФ.

Апробация работы состоялась на заседании кафедры урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины МНОИ МГУ имени М. В. Ломоносова (19.09.2024 года).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ²

1.1 Эпидемиологические аспекты мочекаменной болезни

Мочекаменная болезнь (МКБ) – это хроническое заболевание обмена веществ, для которого характерны полиэтиологичность и полипатогномоничность, проявляющееся образованием камней в верхних мочевых путях [3].

Заболеваемость уролитиазом в мире колеблется от 1 до 20% [75], выше среди мужчин, чем среди женщин (соотношение около 3:1) и наиболее часто проявляется в возрасте 40-50 лет [7].

Распространенность мочекаменной болезни за последние десятилетия увеличилась во всем мире. Глобальный рост заболеваемости и распространенности нефролитиаза был зарегистрирован почти во всех популяциях, при этом уровень распространенности колеблется от 1 до 20% [51]. Мочекаменная болезнь часто является рецидивирующим и пожизненным заболеванием с частотой рецидивов 50% в течение 5-10 лет и 75% в течение 20 лет [51].

В РФ одной из немаловажных причин уменьшения качества жизни, а также увеличения инвалидизации и смертности являются урологические заболевания, составляющие до 12% от общей заболеваемости населения. За последние 15 лет в целом в Российской Федерации отмечается значительное увеличение распространенности МКБ. Рост заболеваемости за тот же период составил 16,2% [99].

² При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные соискателем в соавторстве, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Савилов, А.В. Наследственный фактор метафилактики мочекаменной болезни: современное состояние вопроса / А.С. Тивтикян, А.В. Савилов, Д.А. Охоботов [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, N 1. – С. 76–84 (1,04 п.л. / авторский вклад – 0,16 п.л.); Савилов, А.В. Изменения концентрации остеопротегерина в сыворотке крови при рецидивирующем уролитиазе / А.В. Савилов, М. Джайн, А.С. Тивтикян, М.Е. Коцепуга, Д.М. Анохин, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнева, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2023. – Т. 11, N 3. – С. 77-86 (1,16 п.л. / авторский вклад – 0,87 п.л.).

1.2 Исторические и экономические аспекты изучения мочекаменной болезни

Почечнокаменная болезнь, известная также как мочекаменная болезнь, является одним из старейших заболеваний, известных медицине [85]. Первые конкременты в мочевых путях были обнаружены в египетских мумиях 4000–5000 гг. назад до нашей эры. Лечение уролитиаза упоминается в древнеегипетских медицинских трудах 1500 г. до н.э. Между V и III веками до н.э. врачи клялись воздерживаться от участия в операциях по удалению камней, как гласит Клятва Гиппократова: «Я ни в коем случае не буду делать сечения у страдающих каменной болезнью, предоставив это людям, занимающимся этим делом». Также Гиппократ впервые описал клиническую картину почечной колики и дал первые рекомендации по её лечению, в частности, тепловыми процедурами. Во II веке н.э. Гален доказал связь формирования конкрементов мочевых путей с климатом, расой человека, употребляемой пищей и составом воды. В средние века операции по удалению камней выполняли парикмахеры, которых называли литотомистами. 500 лет литотомисты путешествовали по Европе со своими «литотомическими столами» и удаляли камни. Авиценна в XI веке н.э. установил связь развития мочекаменной болезни, диеты и нарушения пассажа мочи. В XII веке н.э. уже были сформулированы рекомендации по оперативному лечению уролитиаза. В 1561 году Пьер Франко провел первую надлобковую цистолитотомию [32]. В 1929 году Янг впервые в истории выполнил уретероскопию, данный факт явился большим импульсом в развитии малоинвазивных методик лечения мочекаменной болезни. В 1937 году Александр Рэндалл изложил теорию, ставшую революционной в исследовании патогенеза уролитиаза, согласно которой существуют отложения фосфата и карбоната кальция в области почечных сосочков чашечно-лоханочной системы почек. В международную классификацию болезней мочекаменная болезнь впервые была внесена лишь в 1955 году. Активное внедрение малоинвазивных методик лечения в мире отмечено начиная с 1980-х годов. В 1980 году в Германии проведена первая дистанционная ударно-волновая литотрипсия.

В России мочекаменная болезнь стала активно изучаться лишь в XVII веке, и связано это было с именем Петра Великого, с юных лет страдавшим «почками». По указанию Петра Первого был открыт первый водолечебный курорт «Марциальные воды», располагавшийся на территории нынешней Карелии.

Большой вклад в развитие лечения уролитиаза в нашей стране внесли С.И. Спасокукоцкий, С.П. Федоров, Б.Н. Хольцов, Р.М. Фронштейн, В.В. Гольдберг, А.Я. Пытель, Д.В. Кан и др.

Одной из важнейших вех в развитии отечественной урологии стало проведение в 1987 году первого сеанса дистанционной ударно-волновой литотрипсии на аппарате «Урат-П» в стенах НИИ Урологии под руководством академика Н.А. Лопаткина.

Молекулярно-генетические исследования, направленные на изучение уролитиаза, начали активно внедряться лишь с начала XXI века.

В 2022 году были опубликованы данные заболеваемости МКБ в РФ с 2005 по 2019 гг. Рост последней за отчетный период составил 35,45%. Аналогичная ситуация с заболеваемостью пациентов с диагнозом, установленным впервые в жизни - прирост на 14%. Резкое уменьшение числа заболевших в 2020 г. связано с пандемией новой коронавирусной инфекцией [3]. Что касается зарубежных статистических данных, то исследовательская программа «Национальное обследование здоровья и питания» (NHANES), на которую ориентируются при анализе распространенности уролитиаза в Соединенных Штатах, опубликовала данные, согласно которым отмечается увеличение распространенности нефролитиаза с 5,2% в период с 1988–1994 до 8,8% в период с 2007 по 2007 годам. Проект «Урологические заболевания Америки», финансируемый Национальным институтом диабета, болезней органов пищеварения и почек, оценил ежегодные затраты на мочекаменную болезнь в 10 миллиардов долларов в 2012 году, что делает ее самым дорогостоящим урологическим заболеванием [32].

В 2017 году в США было проведено исследование по оценке экономической составляющей всех лечебно-диагностических мероприятий, связанных с

мочекаменной болезнью. Совокупные затраты на лечение пациентов с мочекаменной болезнью к 2030 году должны составить 3,34 млрд долларов и иметь ежегодный рост на 8,3%.

Таким образом, предотвращение рецидивов среди групп риска пациентов, страдающих уролитиазом, может представлять собой экономически обоснованный подход к лечению этого заболевания [51].

1.3 Механизмы и причины камнеобразования в почках

Несмотря на активное изучение патогенеза мочекаменной болезни во всем мире, прийти к одному единому механизму камнеобразования так и не удалось. Анализ исследований показывает, что существует пять основных теорий камнеобразования.

1. Теория перенасыщения мочи камнеобразующими ионами.
2. Коллоидно-кристаллоидная теория.
3. Теория о роли половых гормонов при кальций-оксалатном уролитиазе.
4. Теория о роли микробиома в патогенезе уролитиаза.
5. Теория иммунного ответа в патогенезе уролитиаза.

Образование конкрементов представляет собой сложный и многоэтапный процесс, который включает перенасыщение мочи, зарождение кристаллов, рост и агрегацию [85].

В настоящее время общеизвестно всего два варианта или механизма образования конкрементов в верхних мочевых путях – это формальный и каузальный. Для формального варианта характерно перенасыщение мочи различными агентами, способствующими появлению конкрементов, гетерогенную или гомогенную кристаллизацию, определяющуюся ионным составом мочи, и соединение или агрегация кристаллов. Агрегация кристаллов совершается 4

способами: появление конкрементов на бляшках Рэндалла, являющиеся гидроксиапатитами по своему химическому составу и происходящими из почечного интерстиция; появление камней поверх закупоренных протоков Беллини (ПБ); формирование конкрементов в почечных собирательных канальцах, относящихся к внутреннему мозговому веществу; появление камней в чашечно-лоханочной системе в так называемом «свободном растворе». Для каузального или причинно-следственного варианта образования конкрементов, включающего комплекс различных внешних и внутренних факторов, характерны: климатические и географические факторы; факторы, объединяющие все социально-бытовые условия проживания человека; генетические факторы; факторы, связанные с различными вредностями [7].

Теория перенасыщения мочи камнеобразующими ионами

В основе данной теории камнеобразования лежит гиперсатурация мочи, кристаллизация с внутривисцеральным осаждением кристаллов. Как правило, в основе этого лежат врожденные или приобретенные заболевания, вызывающие нарушение функции почек. На процесс гиперсатурации и кристаллизации оказывают влияние различные факторы, включая уровень pH мочи, а также увеличенные уровни некоторых веществ, например: соли кальция (фосфаты, оксалаты), соли мочевой кислоты, струвит, цистеин и пурин. Также немаловажное значение имеют лекарственные препараты, в частности некоторые антибактериальные препараты цефалоспоринового и пенициллинового рядов. Кроме того, свою роль в этом процессе играют молекулы-модуляторы, включающие как промоторы, так и ингибиторы камнеобразования.

Коллоидно-кристаллоидная теория

Коллоидно-кристаллоидная теория построена на слиянии кальциево-фосфатных ядер и скрепляющих веществ. Данная теория в большой степени относится к оксалатным конкрементам. По этой теории в начале происходит

отложение солей фосфорной кислоты на базальной мембране, после чего происходит их миграция в интерстициальную ткань и субэпителиальное пространство почечных сосочков. Соли кальция откладываются в субэпителиальном пространстве и как следствие этого наступает повреждение

Первично соли фосфорной кислоты оседают на базальной мембране, откуда они мигрируют в интерстициальную ткань и субэпителиальное пространство почечных сосочков. Далее в субэпителиальном пространстве происходит отложение солей кальция, результатом данного процесса является необратимое повреждение их эпителия.

Теория о роли половых гормонов при кальций-оксалатном уролитиазе

В ряде исследований было показано, что мужской пол чаще подвержен заболеваемости кальций-оксалатной формой уролитиаза, чем женский, причем в соотношении 2-3:1. [109]. Однако точный механизм этого в настоящий момент до конца не изучен. По некоторым данным андрогены могут усиливать оксалатурию, а эстрогены в свою очередь её снижая, также снижать и риск отложения солей кальция в почках.

Так же активация андрогеновых рецепторов может стимулировать гликолатоксидазу в печени и субъединицу p22phox НАДФ, увеличивая биосинтез оксалатов [108]. Действие тестостерона также может напрямую стимулировать развитие уролитиаза за счет индукции апоптоза и некроза эпителиальных клеток почечных канальцев по средствам HIF-1 α /BNIP3 [67]. Посредством андрогеновых рецепторов возможно ингибирование и подавление фагоцитарной способности макрофагов за счет снижения сигналов колонийстимулирующего фактора 1 (CSF-1/miR-185-5p) [67]. По данным исследования проведенного Sueksakit K. и др. в 2019 году ингибитор 5 α -редуктазы финастерид снижает стимулирующий эффект кристаллообразования оксалата кальция тестостерона [67]. Также известно, что ингибитор андрогеновых рецепторов диметилкуркумин (ASC-J9) блокирует кристаллообразование оксалата кальция, в результате модуляции биосинтеза оксалатов и индуцированного активными формами кислорода повреждения

эпителиальных клеток почечных канальцев [67]. Эстроген напротив обладает протективным эффектом в отношении кристаллообразования оксалата кальция. Peerapen P. и др. в исследовании, датированном 2019 годом, доказали, что уменьшение экспрессии анексина A1 и α -энолазы, являющихся рецепторами кристаллов кальциевой соли щавелевой кислоты, уменьшение внутриклеточного АТФ, увеличение пролиферации и регенерации клеток почечных канальцев возникает из-за перемен в протеоме клеток почечных канальцев, индуцированных эстрогеном. Рецептор эстрогена β (ER β) может подавлять оксалат-индуцированный окислительный стресс посредством подавления транскрипции субъединицы 2 НАДФН-оксидазы (NOX2) за счет связывания с элементами ответа на эстроген на 5'-промоторе NOX2, оказывающего протективное действие в отношении отложения кристаллов оксалата кальция в почках [81].

Теория о роли микробиома в патогенезе уролитиаза.

По данным ряда исследователей микроорганизмы, которые относятся к микробиому человека, включая микроорганизмы почек, мочевыделительных путей могут оказывать разнонаправленное действие [96]. Уреазопродуцирующая бактерия (*Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii*, *Serratia* и *Morganella morganii*) связана с образованием струвитных конкрементов [40]. В результате расщепления уреазой мочевины, образуется углекислый газ и аммиак, что приводит к подщелачиванию мочи и образованию фосфатных камней. Несмотря на исследования в данной области, нет окончательного понимания: конкременты образуясь в почках, вторично инфицируются, или они являются результатом существования очага инфекции, способствующего образованию конкрементов.

Роль нанобактерий в патогенезе уролитиаза на данный момент до конца не изучена. Ряд исследователей полагают, что нанобактерии могут быть источниками инфицирования пациентов с апатитовыми конкрементами в почка [17]. N.

Ciftcioglu и др. в своей работе показал, что 97,2% конкрементов в почка содержали нанобактерии [79].

Нанобактерии могут играть важную роль в образовании кальциевых конкрементов, в связи с тем, что они в достаточном количестве синтезируют апатит кальция в своей стенке для инициации процесса камнеобразования. Нанобактерии – это наночастицы минерального белка с биомиметическими функциями. Повреждение нанобактериями эпителиальных клеток почечных канальцев наступает в результате их цитотоксичности для фибробластов 3Т6 и клеток НК-2, что в конечном итоге приводит к образованию конкрементов [83]. Изучение роли нанобактерии в патогенезе уролитиаза продолжается, но на данный момент известно, что они могут являться триггерным фактором в патогенезе уролитиаза.

Кишечный микробиом также играет важную роль в патогенезе уролитиаза. J.M. Stern и др. провели исследование, в котором показали, что соотношение представителей ряда родов кишечного микробиома меняется в зависимости от наличие конкрементов в мочевыводящих путях. В частности, представители рода *Bacteroides* были в 3,4 раза более распространены у пациентов с конкрементами в мочевыводящих путях. Представители рода *Prevotella* в свою очередь в 2,8 раза распространены у пациентов, не страдающих мочекаменной болезнью. Род *Eubacterium* имеет обратную корреляцию с уровнем оксалатов, а род *Escherichia* – с уровнем цитратов [48]. Тем не менее требуется дальнейшее изучение взаимосвязи кишечного микробиома и патогенеза уролитиаза для решения вопроса о диагностической ценности данной взаимосвязи для метафилактики мочекаменной болезни.

Теория иммунного ответа в патогенезе уролитиаза

Иммунный ответ при мочекаменной болезни заключается в накоплении макрофагов и в связанном с этим их провоспалительным или противовоспалительным действием [86]. Макрофаги способствуют процессу образование кристаллов оксалата кальция путем взаимодействия CD44 с остеопontiном и фибринектином, которые активизируется в клетках почечных

канальцев [86]. Также доказано, что макрофаги синтезируют различные медиаторы воспаления почек, такие как моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 и интерлейкин-8. Это приводит к усилению привлечения различных иммунных клеток (моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, Т-клетки) в очаг воспаления [36]. По мнению ряда исследователей, одно из важных значений в патогенезе кальций-оксалатной формы МКБ играют экзосомы, являющиеся производными макрофагов [89]. Дифференцировка M1/M2-макрофагов играет важную роль в формировании кристаллов оксалата кальция в почках [86]. Миграция почечных макрофагов и кристаллический фагоцитоз, посредством связанной с воспалением экспрессии генов, сопровождает образование и элиминацию кристаллов оксалата кальция у мышей. Данное явление обнаружено с помощью ассоциативного анализа экспрессии генов, связанных с камнями, и наблюдения за микроструктурой [86]. Однако до конца не решен вопрос о влиянии воспаления, опосредованного макрофагами M1 и индуцирующего уролитиаз, на уровень ингибиторов камнеобразования. Khan S.R. и др. в своем исследовании показали, что макрофаги M1 могут вызывать острое повреждение тканей, связанное с отложением кристаллов солей и образованием бляшек Рэндалла [60]. Taguchi K. и др. в своем исследовании не получили подтверждения связи повреждения почечной ткани и кристаллообразования. Они основывались на отсутствии изменений в анализах мочи при липосахаридном (LPS)-индуцированном опосредованном макрофагами M1 остром повреждении почек. Макрофаги M2 благодаря клатрин-зависимому механизму обладают противовоспалительным действием и посредством фагоцитоза могут разрушать фрагменты кальций-оксалатных конкрементов [69]. С учетом незаконченного изучения роли иммунного ответа при уролитиазе, данный подход может иметь место для профилактики рецидивов мочекаменной болезни у некоторых пациентов посредством модуляции иммунного ответа [54].

1.4 Роль бляшек Рэндалла в патогенезе уролитиаза

В 1937 году впервые в истории мировой науки была опубликована теория образования конкрементов, которая основалась на изменениях в области почечных сосочков, являющихся фундаментом для появления конкрементов. Автором данной теории был Александр Рэндалл.

Впоследствии данные изменения были названы в честь автора открытия – бляшки Рэндалла. Они представляют собой скопления фосфата кальция, которые располагаются в районе почечных сосочков и имеют белую окраску. Кальциевые соли фосфора распространяются от базальной мембраны петли Генле, через интерстициальную ткань до субэпителиального пространства почечных сосочков. На заключительном этапе происходит разрушение эпителия почечных сосочков.

По данным ряда исследований каждый одиннадцатый человек в мире хотя бы один раз в жизни столкнется с эпизодом почечной колики. Вместе с тем доля пациентов, страдающих уролитиазом и, у которых были выявлены бляшки Рэндалла во Франции за последнее десятилетие выросла на 22% (женщины) и 32% (мужчины) [77].

С момента публикации данной теории проведено множество научных работ по изучению состава, распространенности бляшек Рэндалла. В исследовании Michel Daudon, опубликованном в 2015 году во Франции, при помощи электронной микроскопии выполнен анализ бляшки Рэндалла. Было показано, что бляшки состоят из почечных канальцев с кальцинированной стенкой и почечных канальцев, заполненных фосфатом кальция [41]. В том же году в США Emmanuel Letavernier провел исследование распространенности бляшек Рэндалла у пациентов с мочекаменной болезнью. По результатам работы у 34,1% были выявлены бляшки Рэндалла, причем отмечена неизвестная связь полиморфизма гена витамина D, связанная с образованием последних. Важным аспектом стал факт, что формирование бляшек Рэндалла происходит задолго до манифестации мочекаменной болезни. Данное заключение подчеркивает участие генетических факторов в патогенезе уролитиаза [66].

В 2021 году в США Saeed R Khan и др. проведено исследование, в котором показано, что в состав бляшки Рэндалла помимо кристаллов фосфата кальция, смешанных с органическим матриксом, входят экзосомы, волокна коллагена и другие компоненты внеклеточного матрикса. Также установлено, что условия перенасыщения мочи способствуют повреждению почек, индуцируя выработку активных форм кислорода и окислительный стресс. Последующий воспалительный иммунный ответ способствует образованию бляшек Рэндалла и образованию кальциевых камней [60].

Elise Boudierlique и др. в 2019 году опубликовали исследование, проведенное на мышах, в котором установили связь появления и значительного прогрессивного роста бляшек Рэндалла и эластической псевдоксантомы, являющейся генетическим заболеванием, вызываемой мутациями в гене *ABCC6* [101]. Данное заболевание характеризуется снижением уровня пирофосфата в плазме крови, который в свою очередь является естественным ингибитором системной кальцификации и отложения кристаллов гидроксиапатита в почечных сосочках. При длительном введении витамина D и кальция мышам, страдающим эластической псевдоксантомой, происходит значительный рост бляшек Рэндалла с последующим образованием конкрементов. При отсутствии данного генетического заболевания назначение витамина D, кальция вместе или порознь не приводило к появлению бляшек Рэндалла. Назначение витамина D способствовало нарастанию гиперкальциурии с формированием фосфатных конкрементов, назначение кальция ни к каким изменениям не привело. Таким образом дефицит пирофосфата является критическим фактором при формировании бляшек Рэндалла за счет усиления отложения фосфата кальция в почечных сосочках. Назначение витамина D, кальция пациентам с дефицитом пирофосфата, может ускорить появление и рост бляшек Рэндалла [76, 101]. Изолированное назначение кальция без витамина D способствует профилактике манифестации и рецидива уролитиаза, в связи с образованием комплекса кальция и оксалата в кишечнике [91].

1.5 Метаболический синдром и уролитиаз

Метаболический синдром – это хроническое и многофакторное заболевание, характеризующееся сочетанием различных клинических проявлений, но имеющих общий патофизиологический механизм: инсулинорезистентность. Распространенность метаболического синдрома варьируется от 24 до 42% у взрослого населения и более 66,4% пожилого населения [43]. Ключевыми компонентами, входящими в метаболический синдром, являются ожирение, дислипидемия, гипертензия и гипергликемия. Помимо общих системных проявлений, метаболический синдром вызывает специфические изменения в органах, некоторые из которых способствуют развитию уролитиаза [95]. В последние годы идет активное изучение мочекаменной болезни, как системного заболевания, что требует более детального анализа её взаимосвязи с метаболическим синдромом и входящими в него компонентами.

В разные годы были проведены исследования о связи ожирения и повышенного риска формирования конкрементов в почках. Так Taylor и коллеги в своей работе, опубликованной в 2005 году, выявили, что развитие мочекаменной болезни ассоциировано с индексом массы тела и окружностью талии [92]. Inci и коллеги в 2012 году в своем исследовании также показали, что значимо повышенные показатели индекса массы тела характерны для людей, страдающих МКБ [18]. Sorensen и коллеги в 2014 году также определили зависимость риска развития уролитиаза от повышения индекса массы тела (ИМТ) ($25\text{--}29,9\text{ кг/м}^2$ (в 1,3 раза), $30\text{--}34,9\text{ кг/м}^2$ (в 1,62 раза) и $\geq 35\text{ кг/м}^2$ (в 1,81 раза) по сравнению с $\text{ИМТ} < 25\text{ кг/м}^2$) [14]. Kim и коллеги в 2014 году уже в своем исследовании обнаружили зависимость толщины висцеральной жировой ткани, измеренное по данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), и риска уролитиаза [98].

Сахарный диабет 2 типа является еще одним фактором риска развития уролитиаза [92]. Ввиду того, что понижение pH мочи является ведущим фактором риска формирования конкрементов из мочевой кислоты, то инсулинорезистентность, при которой снижается образование аммония, а вместе с тем и происходит снижение pH мочи, является одним из основных триггеров развития уратного уролитиаза [68]. При гипергликемии происходит увеличение запасов крайних продуктов гликирования (AGE), обладающих провоспалительным действием и приводящим к сосудистой эндотелиальной дисфункции [15]. Инсулинорезистентность является причиной снижения pH мочи, что является еще одним предрасполагающим фактором развития уролитиаза [68].

Артериальная гипертензия, будучи одним из компонентов метаболического синдрома, двунаправленно влияет на риск развития уролитиаза. Пациенты, страдающие гипертонической болезнью, имеют повышенный риск формирования конкрементов в почках. Уролитиаз является фактором риска развития гипертонической болезни [87].

Дислипидемия, являясь еще одной составляющей метаболического синдрома, способствует образованию конкрементов в почках за счет снижения уровня pH [69]. Также отмечаются повышенные показатели общего холестерина, триглицеридов у пациентов с уролитиазом [44].

Связь сердечно-сосудистых заболеваний и уролитиаза изучалась достаточно давно. В ряде исследований было показано, что смертность у пациентов с кальций-оксалатной формой уролитиаза, которая непосредственно связана с сердечно-сосудистыми заболеваниями значительно выше. Также отмечался рост других биохимических показателей (общий холестерин, ЛПВП, С-реактивный белок). Такие факторы риска ишемической болезни сердца, как курение табака, гипертоническая болезнь, повышение уровня холестерина, избыточный вес ассоциированы с развитием кальций-оксалатной формы уролитиаза [61]. Пациенты с уролитиазом имеют повышенный риск развития инфаркта миокарда, независимо

от других факторов риска [63]. Reiner и коллеги обнаружили связь толщины сонных артерий и уролитиаза. У пациентов с мочекаменной болезнью толщина стенок сонной артерии больше [62]. Patel и коллеги продемонстрировали связь кальцификации брюшного отдела аорты с развитием уролитиаза, низкого pH и гипоцитратурии [100].

Метаболический синдром повышает риск манифестации или рецидива уролитиаза в 2 раза. В разные годы в США, Италии, Японии, Южной Корее проводились исследования, в которых были получены схожие результаты. Одно из крупнейших исследований по данной тематике было проведено в Италии в 2009 году, в завершении которого была установлена связь метаболического синдрома и мочекаменной болезни. Также было выявлено, что мужской пол является независимым фактором риска развития нефролитиаза [21]. Пациенты с метаболическим синдромом как правило имеют кальций-оксалатные или в меньшем количестве уратные конкременты [73].

1.6 Ингибиторы и промоутеры камнеобразования

Процесс камнеобразования – это сложный механизм, являющийся следствием нарушения баланса между ингибиторами и промоутерами камнеобразования. Ингибиторы – это вещества, влияющие на любой этап формирования конкремента в почках: перенасыщения мочи различными солями, образования матрицы будущего конкремента, рост кристаллов, агрегация солей и т.д. [66]. Sakıroğlu B. и др. показали, что происходит разнонаправленное изменение экскреции оксалатов и цитратов при развитии рецидивирующего уролитиаза [71]. Главными стимуляторами развития МКБ являются: ионы кальция, соли щавелевой, фосфорной и мочевой кислот. Некоторые из промоуторов включают липиды клеточных мембран. Ингибиторами манифестации и рецидива МКБ являются: ионы магния, остеокальцин, бикунин, пиррофосфат, остеокальцин, матриксный GLA протеин, фрагмент 1 протромбина, цитрат, белок Тамма–Хорсфалла. Их действие

основано на уменьшении количества точек кристаллизации на поверхности тубулярного эпителия.

1.7 Генетические факторы в патогенезе уролитиаза

Генетические варианты в популяции могут способствовать значительному риску проявления таких многофакторных нарушений, включая образование камней в почках и рецидивы [75, 105]. Таким образом, ожидается, что изучение связанных генетических полиморфизмов поможет в выявлении лиц с риском рецидива почечных камней, определении патофизиологических механизмов и определении новых мишеней для лекарственной терапии.

1.7.1 Ген рецептора фактора некроза опухолей 11Б или остеопротегерина (TNFRSF11B)

Возглавляемая W. Simonet команда ученых из США (штат Калифорния) в 1997 году опубликовала статью, в которой сообщила мировой общественности об открытии нового гликопротеина. Данный гликопротеин, получивший название остеопротегерин (ОПГ), является представителем суперсемейства рецепторов α -фактора некроза опухоли. Молекула ОПГ состоит из трех доменов, влияющих на ее биологическую функцию. N-концевая часть представляет содержащий цистеин домен, необходимый для димеризации и остеокластогенеза. С-концевая часть содержит домены апоптоза и связывающего гепарин, который в свою очередь может взаимодействовать с различными протеогликанами. К примеру, взаимосвязь ОПГ и гепаринсульфата зафиксирована при миеломе.

ОПГ относится к одному из основных регуляторов остеокластогенеза. ОПГ, известный также как фактор ингибирующий остеокласты, является активным участником системы регуляции метаболизма костной ткани OPG/RANK/RANKL. RANKL является членом семейства фактора некроза опухоли и также известен как лиганд остеопротегерина или фактор дифференцировки остеокластов. Свои действия он оказывает через RANK. RANK является членом суперсемейства

фактора некроза опухоли и экспрессируется на поверхности гемопоэтических предшественников остеокластов, зрелых остеокластов, хондроцитов, эпителиальных клеток молочной железы и дендритных клеток. Есть суждения, что состояние костной ткани определяется соотношением RANKL и ОПГ [58].

Остеобласты и остециты продуцируют RANKL, который связываясь с RANK-рецептором стимулируют активность остеокластов и ингибируют их апоптоз. Действуя как рецептор-приманка, ОПГ конкурентно связывается RANKL, предотвращая его связывание с RANK, тем самым подавляя образование и активность остеокластов. Подтверждение этому было получено в исследовании проведенном Висау N. и соавт., где у трансгенных мышей без ОПГ развился тяжелый остеопороз, в то время как у мышей со повышенной экспрессией ОПГ был диагностирован остеопетроз [80].

ОПГ кодируется геном остеопротегерина (TNFRSF11B), который был обнаружен на хромосоме 8q23-24 и содержит 5 экзонов и охватывает 29 тысяч пар нуклеотидов. На данный момент в мире было проведено большое количество исследований по изучению ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов гена ОПГ и сниженной минеральной плотности костной ткани. В большинстве из них выявлено наличие однонуклеотидных полиморфизмов в промоторной области гена [51]. S. Jurado и др. в исследовании ассоциации полиморфизмов и гаплотипов гена ОПГ и снижения минеральной плотности костной ткани выявили один полиморфизм (rs1032129) и четыре гаплотипа, связанных со снижением минеральной плотности костной ткани и/или переломом кости (rs1032128 / rs1032129, rs11573896 / rs4319131 / rs11573888 / rs3134054, rs3134057 / rs3134058 / rs1485289 / rs11573856 / rs11573855 / rs7463176 / rs10505346 / rs2073618) [79]. B.L. Langdahl и др. провели исследование по изучению влияния однонуклеотидных полиморфизмов на минеральную плотность костной ткани костей предплечья у мужчин. Выявлено семь однонуклеотидных полиморфизмов в гене ОПГ, которые связаны с уменьшением минеральной плотности костной ткани в различных участках лучевой и локтевой костей (rs3134058, rs3102724, rs2073618, rs3134057, rs1032129, rs10505348, rs2073617). Среди этих полиморфизмов особенно

выделяется rs3134057. У пациентов с данным вариантом была зафиксирована низкая минеральная плотность костной ткани в средней трети лучевой кости [83].

В РФ в последние годы был проведен ряд исследований, направленных на выявление ассоциации однонуклотидных полиморфизмов различных генов и МКБ. Аполихиным О.И. и др. в 2016 и 2017 гг. были опубликованы результаты работы по поиску возможных ассоциаций полиморфизмов генов, в том числе гена ОПГ, и МКБ безрецидивного течения, в которых статистически значимая ассоциация была выявлена лишь для гена *ORAI1*, (rs7135617) [1, 2].

1.7.2 Ген рецептора витамина D (VDR)

Рецептор витамина D (VDR) является растворимым белком, присутствующим во многих ядрах и клеточных мембранах [108]. VDR относится к суперсемейству, состоящему из рецепторов стероидных гормонов/гормонов щитовидной железы. В промоторной части VDR присутствует в почках, коже, тонком кишечнике, костях. Также экспрессия происходит в иммунных и опухолевых клетках человека.

VDR кодируется VDR геном, который располагается на 12q12–q14 хромосоме и является одним из основных регуляторов гомеостаза кальция. Известны многочисленные, более чем 200, однонуклеотидные полиморфизмы VDR гена, ассоциированные с различными заболеваниями. Как правило они влияют на возможность связывания с 1,25-ОН-D [85]. Ряд исследований показали, что наличие однонуклеотидных полиморфизмов гена VDR, коррелируют с риском образования кальциевых конкрементов в почках. На данный момент не менее 25 подобных полиморфизма изучено. Наиболее изученными считаются *FokI* (rs2228570), *TaqI* (rs731236), *BsmI* (rs1544410) и *ApaI* (rs7975232), причем три из них встречаются в интронных отделах (*TaqI*, *ApaI* и *BsmI*). Кодон изменяет только *FokI* [108]. В свою очередь *TaqI* (rs731236) и *BsmI* (rs1544410) могут влиять на процесс трансляции и/или стабильность РНК без модификации структуры белка [67]. Guangyuan Chen и др. выявили предрасположенность к МКБ, связанную с

TaqI (rs731236). Генотипы Tt и tt повышают риск развития МКБ, в то время как генотип TT его снижает. Таким образом аллель T обладает протективными свойствами в отношении VDR гена и развития МКБ, а аллель t является фактором риска.

1.7.3 Ген кальций-чувствительного рецептора (CaSR)

Ген кальций-чувствительного рецептора находится на хромосоме 3q13.3-21 и включает 103 т.п.н. Данный ген кодирует одноименный белок, состоящий из 1078 аминокислоты. В состав гена входит 3 домена.

Трансмембранная часть внеклеточного домена, состоящая из семи мембранно-охватывающих доменов, играет ключевую роль в связывании внеклеточного кальция. Связь с G-белками и филламином А необходима для передачи сигналов внутри клеток, что происходит в внутреннем домене в результате взаимодействия с внеклеточным кальцием. Элементы, зависимые от витамина D (VDREs), были выявлены в промоторном регионе [8]. Наивысший уровень продукции наблюдается в почечных канальцах и паращитовидных железах. Функция кальций-чувствительного рецептора заключается в снижении реабсорбции кальция в восходящих и дистальных извитых канальцах, увеличении реабсорбции фосфатов в проксимальных канальцах, а также в уменьшении реабсорбции протонов и воды в собирательных трубочках [67].

Широко изучены однонуклеотидные полиморфизмы: A986S (rs1801725, G > T), R990G (rs1042636, A > G) и Q1011E (rs1801726, C > G), которые располагаются в экзоне 7 [81]. Shakhssalim N. и др., а также Vezzoli G. и др. в своих исследованиях диагностировали большую частоту аллелей 986S, 990G и 1011Q у пациентов с МКБ [40, 96]. Kang Liu и др. установил, что наличие полиморфизма гена CaSR R990G повышает предрасположенность к МКБ [94].

Oddsson A. и др. в исследовании, проведенном в Исландии, показали, что однонуклеотидный полиморфизм rs7627468 и rs1801725 гена CaSR, а также 58 полиморфизмов, связанных с ними, имеют ассоциацию с уролитиазом [39].

1.7.4 Ген альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (ESR1)

Действие эстрогена определяется эстрогеновыми рецепторами α (ER- α) и β (ER- β), которые кодируются геном ESR1 (ген альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов) на хромосоме 6q25.1 [79, 83]. Экспрессия изоформ α и β осуществляется в остеобластах, остеокластах и стромальных клетках костного мозга [48, 86]. ESR1 определяет воздействия эстрогенов на костную ткань [36]. Изучению темы однонуклеотидных полиморфизмов гена ESR1 посвящено множество исследований. Так в одной из работ Mondockova и др. показали взаимосвязь наличия полиморфных вариантов гена и снижения минеральной плотности костной ткани [93]. Kurt и др. выявили ассоциацию однонуклеотидных полиморфизмов гена ESR1: rs9340799 и rs2234693 со снижения минеральной плотности костной ткани [47]. Shu и др. определили, что генотип GG и доминантная генетическая модель rs9340799 являются фактором риска для развития постменопаузального остеопороза [25]. Таким образом снижение минеральной плотности костной ткани, индуцированное рядом однонуклеотидных полиморфизмов, может приводить к гиперкальциемии, гиперкальциурии и, как следствие, развитию МКБ.

1.7.5 Ген Клото (KL)

Ген Клото был идентифицирован в 1997 году Куго-о и др. и назван в честь одной из Мойр, богини, которая по греческой мифологии прядет нить жизни, определяя судьбу. Авторы открытия гена установили, что инсерционная мутация в 5'-фланкирующей области гена Клото у мышей была связана с преждевременным старением. И в тоже время, наоборот, сверхэкспрессия гена α -Klotho замедляла старение и увеличивала продолжительность жизни на 20-30% [69]. Ген Клото располагается на 13 хромосоме и кодирует полноразмерный/трансмембранный вариант белка α -Клото с 1014 аминокислотными остатками и укороченный/секретируемый вариант с 550 аминокислотными остатками. Так же в крови, моче и цереброспинальной жидкости определяются и растворимые формы

белка, которые образовались в результате расщепления последнего а-секретазами ADAM10 и ADAM17. α -Клото относится к семейству бетта-гликозидаз. Экспрессия происходит прежде всего в почках, а также в других органах, принимающих участие в обмене кальция (паращитовидные железы, сосудистое сплетение головного мозга). α -Клото оказывает свое действие в дистальном извитом канальце и собирательных трубках по средствам кальциевого ионного канала ванилоидных рецепторов TRPV5, в результате происходит усиление реабсорбции кальция. Также α -клото является коферментом FGF23 и через усиление афинности рецептора к FGF23 происходит ингибирование синтеза витамина D. α -клото усиливает секрецию паратиреоидного гормона и уровень кальция в крови. С учетом активного участия в регуляции гомеостаза кальция, неоднократно проводились исследования по изучению ассоциации гена Клото с МКБ. В частности, Ху С. и др. в своем исследовании получили достоверные различия между носителями генотипа CC SNP rs3752472 и риском развития кальций-оксалатного уролитиаза [54]. Telci D. и др. выявили, что генотип GG SNP rs1207568 G395A гена Клото повышает в 2 раза риск развития МКБ, по сравнению с гомозиготным генотипом AA и гетерозиготным GA. Аллель A также обладает значительно более высоким риском развития МКБ [77]. Ali A. и др. установили, что SNP rs3752472 и rs650439 связаны с повышенным риском развития кальций-оксалатного уролитиаза, ввиду воздействия на нормальный метаболизм кальция и фосфора и повышения экскреции последних с мочой и усилению литогенеза [29]. Однако Mohammadi A. и др. пришли к выводу, что SNP rs3752472 оказывает защитное действие на образование камней. Gürel и др. получили аналогичные данные в отношении SNP rs1207568.

1.7.6 Ген Клаудин-14 (CLDN14)

Функция гена Клаудин-14 (CLDN14) заключается в кодировании одноименного белка. Данный белок, будучи мембранным, является основной составляющей эпителиальных клеток петли Генле, желчевыводящих путей и

Кортиева органа. Это возможно, благодаря его участию в гемидесмомах соответствующих структур. Клаудин-14 продуцируется в петле Генле, а также в проксимальных канальцах. Клаудин-14 действует в петле Генле, уменьшая обратное всасывания кальция и магния. Кальций-чувствительный рецептор регулирует экспрессию Клаудина-14. G. Thorleifsson и др. в ходе своего исследования выявили ассоциацию однонуклеотидного полиморфизма гена Клаудин-14 (rs219780) и МКБ. При данном полиморфизме происходит уменьшение реабсорбции кальция и как следствие гиперкальциурия [90].

1.7.7 Другие гены, оказывающие влияние на камнеобразование: ген кальций релиз-активированного протеина кальциевых каналов 1 (ORAI1), ген натрий-зависимого фосфатного транспортного белка 2A (SLC34A1), ген гамма-диацилглицеролкиназы (DGKH), ген аквапорина 1 (AQP1), ген уромодулина (UMOD), ген остеопонтина (OPN) и ген урокиназного активатора плазминогена PLAU

ORAI1 начинает функционировать при снижении концентрации кальция и входит в состав мембранного кальциевого канала. Y.H. Chou и др. установили, что однонуклеотидные полиморфизмы данного гена rs12313273 и rs6486795 имеют ассоциацию с развитием МКБ [12].

Ген натрий-зависимого фосфатного транспортного белка 2A влияет на обратное всасывание до 85% фосфатов в проксимальных канальцах. Это происходит благодаря кодированию данным геном NPT2, являющегося транспортером фосфатов. Однонуклеотидный полиморфизм данного гена приводит к гипофосфатемической гиперкальциурии, появлению апатитов.

Кодирование диацилглицерол киназы геном гамма-диацилглицеролкиназы является основной его функцией. Диацилглицерол киназа является ферментом, участвующая в метаболизме фосфора. В ходе нескольких исследований получены данные, что при наличии мутаций данного гена возможно развитие МКБ с формированием конкрементов содержащих кальций.

AQP1 кодирует белок транспортер воды, экспрессия которого зависит и контролируется вазопрессином. При мутации данного гена происходит усиление реабсорбции воды из собирательных трубочек и гиперсатурация мочи и, как следствие, увеличение риска развития МКБ [91].

UMOD ген кодирует уромодулин, являющийся ингибитором кавеолин-опосредованного эндоцитоза. Усиление экспрессии кальциевых каналов приводит к усилению реабсорбции кальция.

Ген остеопонтина является VD3-зависимым, ввиду чего повышенная экспрессия витамина D может повышать экспрессию одноименного белка. Остеопонтин, будучи секретируемым белком, может связываться с кальцием за счет отрицательно заряженных аминокислот. Исходя из этого можно сделать вывод, что остеопонтин – это природный ингибитор уролитиаза. Остеопонтин является одним из основных компонентов кальциевых конкрементов. Заключительный этап формирования камня («конкреция») протекает с активным участием остеопонтина. Мутации в гене SPP1, кодирующего остеопонтин, могут быть предиктором развития МКБ. Х. Xiao и др. показали, что SNP rs11439060 SPP1 является фактором риска уролитиаза [22]. Gogebakan B. и др. выявили ассоциацию между наличием однонуклеотидных полиморфизмов гена SPP1 T-593A, rs1126616 и развитием кальций-оксалатного нефролитиаза [23].

Ген урокиназного активатора плазминогена участвует в экспрессии урокиназы. Урокиназа, являясь ферментом, усиливающая фибринолиз и участвующая в трансформации плазминогена в плазмин. Снижение вероятности развития МКБ отмечается при увеличении продукции его почечной тканью из-за распада матричных белков [92].

Несмотря на значительные успехи в изучении генетических факторов, влияющих на возникновение и развитие МКБ, наследственная предрасположенность заболевания изучена недостаточно. Современные постулаты метафилактики МКБ, основанные на экономической обоснованности, требуют полного изучения роли каждого наследственного фактора уролитиаза. Таким образом, исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов, как одной

из самых распространенных генетических патологий, с развитием манифестации, рецидива МКБ, становится необходимым.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ³

2.1 Клинико-статистическая характеристика исследуемых пациентов

Настоящая научная работа была проведена на базе Университетской клиники Медицинского научно-образовательного института Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (директор – академик РАН Камалов А.А.), государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени Академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы» (главный врач – к.м.н. Ефремова Н.М.) и федерального казенного учреждения «Центральный военный клинический госпиталь имени П.В. Мандрыка» Министерства обороны РФ (начальник – д.м.н., д.воен.н. Крайнюков П.Е.). Кафедра урологии и андрологии факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова располагается в Университетской клинике Медицинского научно-образовательного института Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, а также в государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени Академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы».

³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные соискателем в соавторстве, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Савилов, А.В. Роль генетических факторов в развитии рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн, Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, Е.В. Афанасьевская, В.Н. Мамедов, А.С. Шурыгина, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2022. – Т. 10, N 3. – С. 54-64 (1,27 п.л. / авторский вклад – 0,64 п.л.); Савилов, А.В. Изменения концентрации остеопротегерина в сыворотке крови при рецидивирующем уролитиазе / А.В. Савилов, М. Джайн, А.С. Тивтикан, М.Е. Коцепуга, Д.М. Анохин, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2023. – Т. 11, N 3. – С. 77-86 (1,16 п.л. / авторский вклад – 0,87 п.л.); Савилов, А.В. Новые генетические факторы рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 160-161 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.); Савилов, А.В. Остеопротегерин – перспективный маркер рецидива мочекаменной болезни / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 161-162 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.).

Диссертационное исследование получила одобрение локального этического комитета Университетской клиники Медицинского научно-образовательного института Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Это подтверждено протоколом номер 12/20, составленным 21 декабря 2020 года. Кроме того, стоит подчеркнуть, что работа проводилась в соответствии с ключевыми принципами Хельсинской декларации.

2.2 Критерии включения и исключения

Критерии включения

Критерии включения были определены в целях увеличения достоверности результатов исследования и избегания статистических отклонений. Данным критериям отвечают все участвующие в исследовании.

- Полный возраст участников как мужчин, так и женщин от 18 лет;
- Для группы наблюдения №1: наличие рецидива кальций-оксалатной формы уролитиаза на момент исследования (причем должно быть не менее одного диагностированного эпизода рецидива заболевания ранее). Под рецидивом понимается начало заболевания, в виде почечной колики или обнаружение нового конкремента или конкрементов в ходе инструментального обследования;
- Для группы наблюдения №2: единичный эпизод почечной колики с последующим оперативным лечением или самостоятельным отхождением кальций-оксалатного конкремента в анамнезе и отсутствие на момент исследования камней в мочевыделительной системе;
- Наличие кальций-оксалатной формы МКБ. Причем форма уролитиаза определяется методом инфракрасной спектроскопии конкремента. *Уровень убедительности рекомендаций C, уровень достоверности доказательств – 5. (Клинические рекомендации по мочекаменной болезни от 2020 года, утверждены Минздравом РФ) [7];*

- Участники исследования не должны страдать синдромом мальабсорбции, первичным гиперпаратиреозом или другими проявлениями вторичных форм МКБ;
- Подписание добровольного информированного согласия участником исследования.

Критерии исключения

Критерии исключения были определены в целях увеличения достоверности результатов исследования, избегания статистических отклонений, препятствия попадания в исследование участников, которые могут поставить под сомнение этапы или все исследование в целом. При наличии у пациентов критериев исключения, независимо от соответствия критериям включения, данные участники к исследованию не допускались.

- Отказ человека от участия в исследовании;
- Иная форма МКБ (по химическому составу конкремента);
- Наличие хронического уростаза почек;
- Наличие инфекций мочевыделительной системы в стадии обострения;
- Онкологические заболевания мочевыделительной системы, независимо от вида и давности лечения;
- Иные заболевания, которые могут способствовать развитию рецидивирующей формы МКБ.

2.3 Процедура включения пациентов в исследование

Пациентам, соответствующим критериям было предложено участие в исследовании. Письменное согласие на участие в исследовании было взято у каждого участника (приложение 1). Забор биоматериала (крови) у каждого

участника проводился исключительно после подписания согласия на участие в исследовании.

Первоначально в исследование было включено 235 пациентов, которые проходили лечение в урологических отделениях Университетской клиники МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова, ГБУЗ г. Москвы «ГКБ № 31 им. Академика Г.М. Савельевой ДЗ г. Москвы» и федерального казенного учреждения «ЦВКГ имени П.В. Мандрыка» Минобороны России по поводу мочекаменной болезни. В ходе комплексного обследования пациентам была проведена инфракрасная спектроскопия с определением химического состава конкремента, в результате чего было исключено 114 пациента с конкрементами другого состава: смешанный состав (уратно-оксалатные конкременты) – 65 участников, кальций-фосфатный состав камня – 17 человек, уратные конкременты – 30 участников, струвитные камни – 2 пациента. Из оставшихся 121 пациента 20 были исключены: 4 человек был диагностирован первичный гиперпаратиреоз, у 3 человек был выявлен синдром мальабсорбции (на фоне хронического панкреатита), у 13 человек было выявлено выраженное нарушение уродинамики (стриктура мочеточника, уретеро-вазальный конфликт) с развитием вторичной формы МКБ.

Деление участников исследования в зависимости от формы МКБ показано в таблице, которая расположена ниже.

Таблица 1.

Деление участников исследования в зависимости формы МКБ

Участники с кальций-оксалатной формой уролитиаза, n (%)		Иные формы уролитиаза (исключены из исследования), n (%)	
Рецидивирующее течение	73 (31,1%)	Смешанная	65 (27,7%)
Единичный эпизод МКБ в анамнезе,	28 (11,9%)	Уратный уролитиаз	30 (12,8%)

разрешившийся самоотхождением или оперативным лечением и на момент исследования камней в мочевыделительной системе не имеется	Фосфатные камни	17 (7,2%)
	Струвитные конкременты	2 (0,8%)
	Первичный гиперпаратиреоз	4 (1,7%)
	Синдром мальабсорбции	3 (1,3%)
	Нарушение уродинамики верхних мочевыводящих путей	13 (5,5%)
Всего 235 человек с МКБ (100%)		



Рисунок 1. Распределение пациентов по причинам развития МКБ при формировании основных групп.

На этапе разработки дизайна исследования было принято решение об участии пациентов только с кальций-оксалатной формой уролитиаза. Пациенты, прошедшие первичный отбор и страдающие кальций-оксалатной формой уролитиаза, поделены на две группы. В первую основную группу вошли пациенты с кальций-оксалатной формой уролитиаза и на момент исследования у них был диагностирован рецидив заболевания. Во вторую основную группу были включены пациенты, которые ранее перенесли единичный эпизод почечной колики с последующим оперативным лечением или самоотхождением кальций-оксалатного конкремента, определенного методом инфракрасной спектроскопии, и на момент исследования камней в мочевыделительной системе не имели. Группа контроля включала 51 участника, у которых никогда ранее не был установлен диагноз МКБ, семейный анамнез которых также не был отягощен данным заболеванием. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

В таблице 2 представлено распределение пациентов по возрасту. Средний возраст пациентов с рецидивирующей формой кальций-оксалатного уролитиаза составил $57,82 \pm 16,05$ лет. Средний возраст пациентов, у которых был зарегистрирован единичный эпизод почечной колики, за которым последовало хирургическое вмешательство или самостоятельное отхождение кальций-оксалатного камня, и которые не имели камней в мочевыводящей системе на момент исследования, составил $60,04 \pm 13,24$ лет. При распределении по полу в группе с рецидивирующей формой уролитиаза количество мужчин в значительной степени превышало количество женщин: 53 (72,6%) против 20 (27,4%). Отличия в соотношении мужчин и женщин во второй основной группе составила 17 (60,7%) против 11 (39,3%).

Таблица 2.

Распределение пациентов по возрасту и полу

Параметры	Пациенты с кальций-оксалатной формой уrolитиаза в стадии рецидива) (n = 73)	Пациенты с кальций-оксалатной формой уrolитиаза, не имеющие камней в мочевыделительной системе на данный момент (n = 28)
Возраст [M±SD]	57,82 ± 16,05	60,04 ± 13,24
Пол [n (%)]		
Мужчины	53 (72,6)	17 (60,7)
Женщины	20 (27,4)	11 (39,3)

Распределение по размеру конкремента представлено далее. У пациентов с рецидивирующим уrolитиазом средний размер наиболее крупного конкремента составил $7,39 \pm 3,54$ мм. Средний размер второго конкремента (при наличии такового) составил $4,55 \pm 2,20$ мм. Средний размер третьего конкремента (при наличии такового) составил $3,75 \pm 1,55$ мм. Плотность конкремента измерялась по Хаунсфилду. Средняя плотность составила $824,94 \pm 391,13$ ед. Н.

Вся необходимая для исследования информация из историй болезни была отмечена в индивидуальных регистрационных картах (ИРК) (таблица 3). В ИРК были включены следующие характеристики: возраст и пациента, основной диагноз, сопутствующие заболевания, наличие конкрементов в мочевыделительной системе, локализация и размер конкрементов, плотность конкрементов, результаты общеклинических и биохимического анализов крови и мочи, исследование крови для определения уровня остеопротегерина в сыворотке крови, микробиологического исследования мочи с определением чувствительности

к антибиотикам, анализа крови на однонуклеотидные полиморфизмы в кандидатных генах, вид оперативного вмешательства, применяемого у каждого конкретного пациента.

Таблица 3.

Пример ИРК для внесения данных пациентов

ФИО		
Инициалы		
ID		
Возраст		
Дата рождения		
Пол		
Наличие конкрементов в верхних мочевых путях		
Размер первого конкремента		
Размер второго конкремента (при наличии)		
Размер третьего конкремента (при наличии)		
Плотность конкремента по Хаунсфилду		
Дата вмешательства		
Тип вмешательства		
Самостоятельное отхождение		
Хронические заболевания	ИБС	
	ГБ	
	Сахарный диабет 2 типа	
	Другие патологии сердечно-сосудистой системы	
	Другие патологии общего метаболизма	

Курение (>20 пачка/лет)		
Ожирение (ИМТ>30)		
Отягощенный семейный анамнез (МКБ)		
Кровь	Клинический анализ крови	
	Расширенный биохимический анализ крови	
	Коагулограмма	
	Сывороточный остеопротегерин	
Моча	Общий анализ мочи	
	Посев мочи	
Кровь (МГД)	TNFRS11B (Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11B, или остеопротегерин; rs3134057)	
	ESR1 (Estrogen receptor isoform 1; rs851982)	
	VDR (Vitamin D receptor; rs1540339)	
	Другие патологии, связанные с возникновением новообразований	
Постоянно используемые ЛС		

2.4 Дизайн исследования и методы обследования

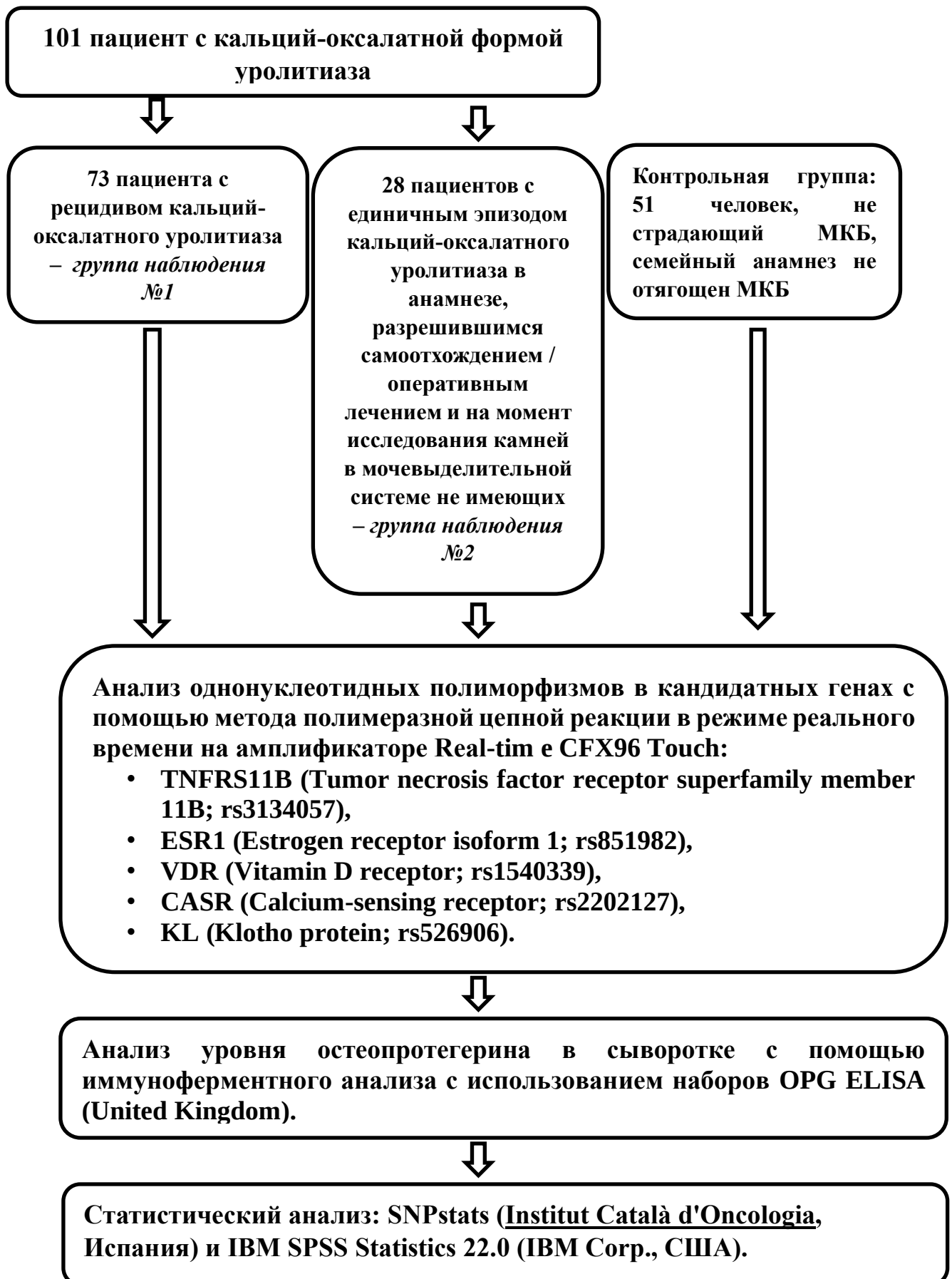


Рисунок 2. Схема дизайна исследования.

Всем пациентам, участвующим в исследовании, проводились сбор анамнеза и физикальное обследование. Сбор анамнеза был проведен для определения возраста пациента, даты первичного установления диагноза МКБ, уточнения истории заболевания и методов лечения, которые ранее применялись. Уточнение сопутствующих заболеваний (при наличии), наличие различных вредностей (в т.ч. профессиональной) имело немаловажное значение. Физикальное обследование проводилось на каждом этапе работы.

Каждому участвующему в исследовании было проведено полноценное обследование, которое проводится пациентам, поступающим для оперативного лечения МКБ. Оно состояло из стандартных или классических методов исследования, а также особое внимание было уделено уточнению общего статуса здоровья пациента и поиску сопутствующей патологии.

Основное обследование:

- Лабораторные исследования: общий клинический анализ крови, общий клинический анализ мочи (с проведением микроскопии осадка), биохимический анализ крови, микробиологическое исследование мочи с определением чувствительности к антибиотикам, ИК-спектроскопия (уточнение химического состава конкремента).
- Инструментальные исследования: ультразвуковое исследование органов мочевыделительной системы, мультиспиральная компьютерная томография органов мочевыделительной системы.

Дополнительное обследование (специальное):

- Анализ однонуклеотидных полиморфизмов в кандидатных генах: TNFRSF11B, ESR1, KL, VDR, CASR;
- Анализ уровня остеопротегерина в сыворотке крови.

Также всем пациентам для исключения избыточной массы тела или ожирения и, как следствие, возможного влияния данного показателя на рецидивирующее течение уrolитиаза, был определен индекс массы тела (ИМТ). Для того чтобы вычислить ИМТ, необходимо массу тела в килограммах разделить на рост в метрах, возведенный в квадрат.

Далее пациентам каждой из групп сравнения было выполнено молекулярно-генетическое исследование с помощью метода ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе Real-time CFX96 Touch. Целью последнего стало наличие возможных однонуклеотидных полиморфизмов генов TNFRSF11B, ESR1, KL, VDR, CASR. Интерес к данным полиморфизмам определялся тем, что по результатам ранее проведенных исследований, в частности, в НИИ Урологии им. Н.А. Лопаткина была диагностирована распространенность выше указанных мутаций на территории РФ [1, 2, 4].

На следующем этапе в каждой из групп был проведен анализ уровня остеопротегерина в сыворотке с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов OPG ELISA (United Kingdom). Интерес к исследованию уровня сывороточного остеопротегерина обусловлен результатами работы Dayarule S. и др., опубликованной в 2021 году, где было выявлено достоверно значимое повышение уровня сывороточного ОПГ ($p < 0,0001$) при уrolитиазе [88].

В заключении для оценки результатов исследования был проведен статистический анализ, полученных данных: SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания) и IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., США).

2.5 Определение полиморфизма исследуемых генов

Сбор венозной крови производился с использованием вакуумных контейнеров на 4,5 мл, созданных компанией Greiner Bio-One, Австрия. Хранение образцов осуществлялось в емкостях по 1,5 мл, которые поддерживались в замороженном состоянии при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. В процессе оттаивания каждый образец тщательно перемешивался методом пульс-вortexирования. Выделение ДНК

выполнялось из 200 мкл неповрежденной крови с использованием набора QIAamp DNA Blood Mini Kit от Qiagen, Германия. Для данной операции привлекалась автоматизированная система QIAcube, произведенная той же фирмой, в строгом соответствии с протоколом производителя.

Анализ однонуклеотидных полиморфизмов в кандидатных генах пациентов из групп наблюдения и контрольной группы проводился с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени на аппарате амплификаторе Real-time CFX96 Touch. Этапы термоциклирование были следующими: экспозиция 10 минут при 95 °C на, за которой следовало 40 циклов денатурации при 92 °C на 15 секунд и аннелирования при 60 °C на 1 минуту. Детальная информация об однонуклеотидных полиморфизмах и применяемых реагентах содержится в таблице 4 научной публикации.

Таблица 4.

Информация об изучаемых SNP и использованных для их выявления реактивах

Ген ^а	SNP ^а	Дикий тип, замена ^а	Локализация ^а	Частота минорного аллеля в популяции ^а	Кат. номер реагентов ThermoFisher ^б
TNFRSF11B	rs3134057	AA A>G	Интронный	0,39	C__27463975_1 0
ESR1	rs851982	TT T>C	Интронный	0,38	C__2496816_1 0
VDR	rs1540339	CC C>T	Интронный	0,36	C__8716064_1 –
CASR	rs2202127	GG G>A	Интронный	0,33	C__16159347_1 0

KL	rs526906	AA A>G	Инtronный	0,17	C____592765_1 0
----	----------	-----------	-----------	------	--------------------

Примечание. SNP – однонуклеотидный полиморфизм; TNFRSF11B - TNF Receptor Superfamily Member 11b; ESR1 - Estrogen Receptor 1; VDR - vitamin D receptor; CASR - Calcium-sensing receptor; KL – klotho.

^a — данные были получены из базы данных dbSNP (NCBI, США).

^б — указанные реагенты являются валидированными готовыми продуктами производства компании Thermo Fisher Scientific, США.

Таблица 5.

Информация об изучаемых SNP и проявлении их действия

Ген ^a	SNP ^a	Дикий тип, замена ^a	Проявление действия (функция белка) при SNP
TNFRSF11B	rs3134057	AA A>G	Усиление костной резорбции, гиперкальциурия
ESR1	rs851982	TT T>C	Усиление костной резорбции, гиперкальциурия
VDR	rs1540339	CC C>T	Снижение реабсорбции кальция в почках, гиперкальциурия
CASR	rs2202127	GG G>A	Ингибирование реабсорбции кальция в петле Генле, гиперкальциурия
KL	rs526906	AA A>G	Повышение реабсорбции кальция в петле Генле, гипокальциурия

2.6 Определение сывороточных концентраций остеопротегерина

Для определения концентрации ОПГ в представленных образцах сыворотки крови был использован метод ИФА (ELISA). Для проведения количественного измерения уровня ОПГ как в плазме, так и в сыворотке крови был использован набор для иммуноферментного анализа Human OPG ELISA kit ab100617 («Abcam», Cambridge, Великобритания). При проведении иммуноферментного анализа осуществлялась однократная промывка, что было осуществлено в полном соответствии с рекомендациями производителя набора.

После проведения разморозки при комнатной температуре образцы сыворотки крови были бережно перевернуты несколько раз для достижения адекватного перемешивания биоматериала. Разбавление сыворотки было выполнено в пропорции 1 к 4. Первоначально в определенную емкость на планшете было внесено 50 мкл раствора, который исследуется, после чего туда же было добавлено 50 мкл специальных антител. Далее исследуемый раствор со специальными антителами с экспозицией в 1 час продержали при температуре от 15 до 25 градусов Цельсия. Затем 350 мкл буферного промывочного раствора трижды была обработана каждая емкость на планшете. В дальнейшем 100 мкл специальных антител добавляли в каждую емкость, предварительно внеся туда ферменты. Время инкубации данного раствора при температуре от 15 до 25 градусов Цельсия составило 10 минут. Стоп-реагент в объеме 100 мкл был внесен в каждую емкость для остановки реакции. Спектрофотометр планшетный на длине волны 450 нм использовался для определения оптической плотности данного раствора. Среднее значение поглощения было посчитано для контрольных емкостей без исследуемых растворов. Полученные результаты вычтены из каждого показателя поглощения. Интерпозиция с учетом результатов поглощения использовалась для вычисления концентрации ОПГ. Конечная концентрация ОПГ в сыворотке крови была определена путем умножения на 5, что соответствует коэффициенту разбавления сыворотки, установленному на предыдущем этапе интерполяции.

2.7 Статистическая обработка данных

Статистический анализ собранных данных осуществлялся с использованием программного обеспечения SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания) и IBM SPSS Statistics 22.0 («IBM Corp.», США). Статистически значимым различием считалось значение $p < 0,05$. Для сравнения групп по количественным показателям применялись методы непараметрической статистики, так как распределение признаков в группах оказалось ненормальным, что было подтверждено с помощью теста Шапиро-Уилка. Для исследования зависимости концентрации ОПГ от генотипа по полиморфизму rs3134057 были использованы модели «АА против АG против GG» и «(АА+АG) против GG», которые были проанализированы с помощью критериев Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни соответственно. Критерии Манна-Уитни также использовались для сравнения уровней ОПГ между группами. Сравнение качественных данных проводилось с применением точного критерия Фишера. Количественные данные представлены в виде [медианы (интерквартильного размаха)]. В основной группе ассоциация уровня сывороточного ОПГ с полом и возрастом была исследована с использованием логистической регрессии. Количественные показатели представлены в виде медианы с указанием первого и третьего квартилей, если не указано иное.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ⁴

3.1 Результаты клинического, лабораторного, инструментального обследования пациентов исследуемых групп

Возраст пациентов, принимавших участие в исследовании в составе группы наблюдения №1, составил $57,82 \pm 16,05$ лет, в составе группы наблюдения №2 – $60,06 \pm 13,24$ лет, в составе контрольной группы – $50,94 \pm 15,45$ лет. Распределение по возрастным диапазонам в группах сравнения представлено в таблице 6.

Таблица 6.

Возраст пациентов в группах сравнения

Возрастной диапазон (годы)	Группа сравнения	% от общего числа (п пациентов)
18-44	Группа наблюдения №1	26,3 (19)
	Группа наблюдения №2	28,5 (8)
	Контрольная группа	50,9 (26)
44-60	Группа наблюдения №1	19 (14)
	Группа наблюдения №2	20 (6)
	Контрольная группа	29,5 (15)
60-75	Группа наблюдения №1	46,7 (34)
	Группа наблюдения №2	35,7 (10)

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные соискателем в соавторстве, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Савилов, А.В. Изменения концентрации остеопротегерина в сыворотке крови при рецидивирующем уролитиазе / А.В. Савилов, М. Джайн, А.С. Тивтикан, М.Е. Коцепуга, Д.М. Анохин, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнева, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2023. – Т. 11, N 3. – С. 77-86 (1,16 п.л. / авторский вклад – 0,87 п.л.); Савилов, А.В. Новые генетические факторы рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнева, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 160-161 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.); Савилов, А.В. Остеопротегерин – перспективный маркер рецидива мочекаменной болезни / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнева, А.А. Камалов // Сборник трудов XIX Конгресса «Мужское здоровье». – 2023. – С. 161-162 (0,06 п.л. / авторский вклад – 0,04 п.л.).

	Контрольная группа	19,6 (10)
75-90	Группа наблюдения №1	8 (6)
	Группа наблюдения №2	15,8 (4)
	Контрольная группа	-

При анализе распределения по полу в группах сравнения преобладали мужчины. В группе наблюдения №1 мужчины составили 72,6%, женщины 27,4%. В группе наблюдения №2 также представителей мужского пола было больше: 60,7% мужчин, 39,3% женщин. В контрольной группе мужчин было 74,51%, женщин – 25,49%.

При анализе ИМТ пациентов в группах сравнения было выявлено, что в группе наблюдения №1 число участников исследования, страдающих ожирением 1, 2 и 3 степеней ($\text{ИМТ} > 30 \text{ кг/м}^2$), статистически значимо превосходит контрольную группу ($p=0,01$). Статистически значимых различий между группам наблюдения №1 и №2 не выявлено ($p=0,11$). Статистически значимого различия между группой наблюдения №2 и контрольной группой не выявлено ($p=0,53$).

Таблица 7.

ИМТ пациентов в группах сравнения

ИМТ кг/м ²	Группа сравнения	[% (n пациентов)]
< 24,9	Группа наблюдения №1	45,2 (33)
	Группа наблюдения №2	60,7 (17)
	Контрольная группа	64,7 (33)
25-29,9	Группа наблюдения №1	34,3 (25)*
	Группа наблюдения №2	32,2 (9)
	Контрольная группа	31,4 (16)

30-34,9	Группа наблюдения №1	16,4 (12)*
	Группа наблюдения №2	7,1 (2)
	Контрольная группа	3,9 (2)
>35	Группа наблюдения №1	4,1 (3)*
	Группа наблюдения №2	-
	Контрольная группа	-

*- $p < 0,05$.

При ретроспективном анализе в группе наблюдения №1 49,3% (36 человек) пациентов до момента настоящего исследования уже была произведена лазерная контактная уретеролитотрипсия по причине рецидива уролитиаза. Причем 2 пациентам выполнены 2 операции, а оставшимся 34 пациентам – 1 оперативное вмешательство. Также чрескожная пункционная нефролитолапаксия выполнена была 23 пациентам, что составило 31,5%. 6,8% (5 участников) пациентов была выполнена пиелолитотомия или уретеролитотомия. При ретроспективном анализе в группе наблюдения №2 42,8% (12 человек) перенесли оперативное лечение по поводу конкрементов верхних мочевых путей, причем из них 8 была проведена контактная уретеролитотрипсия, 4 проведена дистанционная ударно-волновая уретеро- или нефролитотрипсия. У 57,2% (16 человек) почечная колика разрешилась самостоятельным отхождением конкремента на фоне литокинетической терапии.

Наличие конкрементов в мочевыводящих путях являлось характерным для группы наблюдения №1. Размер основного камня, расположенного в мочеточнике, составил $7,39 \pm 3,54$ мм. Размер второго камня, при его наличии, составил $4,55 \pm 2,2$ мм. Размер третьего камня, также при его наличии, был равен $3,75 \pm 1,55$ мм.

Плотность конкрементов оценивалась по шкале Хаунсфилда. В группе наблюдения №1 показатель плотности составил $824,94 \pm 391,13$.

Первичные лабораторные методы диагностики в исследовании состояли из общеклинического анализа крови, общеклинического анализа мочи,

биохимического анализа крови (включал: АЛТ, АСТ, ГГТ, мочевая кислота, креатинин) и микробиологического анализа мочи, данные представлены в таблице 8. При рассмотрении группы наблюдения №1 в общеклиническом анализе крови значимых отклонений от нормы выявлено не было, однако у ряда пациентов был выявлен незначительный лейкоцитоз: уровень лейкоцитов составил $8,31 \pm 2,92 \times 10^9$, эритроцитов - $4,703 \pm 0,58 \times 10^{12}$, гемоглобина $139,28 \pm 14,56$ г/л, тромбоцитов - $214,95 \pm 33,57 \times 10^9$. В биохимическом анализе крови у ряда пациентов диагностирована незначительная азотемия, гиперурикемия, гипергликемия и гиперкальциемия другие показатели были не изменены: уровень АЛТ составил $24,32 \pm 12,01$ ед/л, АСТ - $26,68 \pm 10,28$ ед/л, ГГТ - $37,66 \pm 16,44$ ед/л, мочевой кислоты - $355,3 \pm 102,4$ мкмоль/л, глюкозы - $5,85 \pm 2,07$ ммоль/л, мочевины - $5,85 \pm 2,87$ ммоль/л, креатинин - $106,2 \pm 29,52$ мкмоль/л, ионизированный кальций – $1,71 \pm 0,33$ ммоль/л. В общеклиническом анализе мочи выявлялась лейкоцит- и эритроцитурия, другие показатели были не изменены: pH мочи составила $5,68 \pm 0,42$, плотность мочи составила $1016,95 \pm 8,01$, лейкоцитов – $9,10 \pm 11,68$ в поле зрения, эритроцитов $24,07 \pm 33,04$ в поле зрения. При анализе группы наблюдения №2 в общеклиническом анализе крови, также как в группе наблюдения №1, у ряда пациентов отмечен незначительный лейкоцитоз, без изменений других показателей: уровень лейкоцитов составил $8,31 \pm 2,99 \times 10^9$, эритроцитов - $4,73 \pm 0,57 \times 10^{12}$, гемоглобина $139,95 \pm 14,61$ г/л, тромбоцитов - $214,25 \pm 34,28 \times 10^9$. В биохимическом анализе крови также выявлена невыраженная азотемия, гипергликемия, гиперурикемия: уровень АЛТ составил $24,38 \pm 12,3$ ед/л, АСТ - $27,28 \pm 10,13$ ед/л, ГГТ - $37,67 \pm 16,45$ ед/л, мочевой кислоты - $350,84 \pm 103,19$ мкмоль /л, глюкозы - $5,85 \pm 2,07$ ммоль/л, мочевины - $5,36 \pm 2,92$ ммоль/л, креатинин - $107,02 \pm 29,94$ мкмоль/л, ионизированный кальций – $1,27 \pm 0,05$ ммоль/л. В общеклиническом анализе мочи обращала на себя внимание незначительная лейкоцит-, эритроцитурия, другие показатели соответствовали норме: pH мочи составила $5,69 \pm 0,43$, плотность мочи составила $1016,57 \pm 8,0$, лейкоцитов – $7,9 \pm 11,93$, эритроцитов $18,41 \pm 33,04$. При рассмотрении контрольной группы: в общеклиническом анализе крови значимых отклонений от

нормы выявлено не было: уровень лейкоцитов составил $6,74 \pm 1,131 \times 10^9$, эритроцитов - $4,63 \pm 0,62 \times 10^{12}$, гемоглобина $141,42 \pm 20,94$ г/л, тромбоцитов - $254,54 \pm 46,43 \times 10^9$. В биохимическом анализе крови также значимых отклонений от нормы не выявлено: уровень АЛТ составил $24,32 \pm 20,13 \pm 9,42$ ед/л, АСТ - $23,53 \pm 7,64$ ед/л, ГГТ - $34,54 \pm 14,21$ ед/л, мочевой кислоты - $265,42 \pm 95,4$ мкмоль/л, глюкозы - $4,31 \pm 1,79$ ммоль/л, мочевины - $5,01 \pm 2,14$ ммоль/л, креатинин - $87,39 \pm 24,94$ мкмоль/л, ионизированный кальций - $1,21 \pm 0,03$ ммоль/л. В общеклиническом анализе мочи отклонений от нормы не выявлено: pH мочи составила $5,26 \pm 0,86$, плотность мочи составила $1012 \pm 4,52$, лейкоцитов - $3,9 \pm 1,53$, эритроцитов $1,27 \pm 0,35$.

При статистическом анализе лабораторных показателей в группах сравнения выявлено, что уровень эритроцитов в общем анализе мочи в группе наблюдения №1 статистически значимо выше, чем в группе контроля, $p < 0,001$. Также было выявлено, что уровень ионизированного кальция в группе наблюдения №1 статистически значимо выше, чем в группе контроля, $p < 0,001$ и группе наблюдения №2, $p < 0,001$. Статистически значимых различий между группой наблюдения №2 и группой контроля по данным показателям не получено, $p > 0,05$.

Таблица 8 – Лабораторная характеристика групп сравнения

Параметры (лабораторная диагностика)	Группа наблюдения №1 (n = 73)	Группа наблюдения №2 (n=28)	Контрольная группа (n = 51)
Общеклинический анализ мочи			
pH [M±SD]	$5,68 \pm 0,42$	$5,69 \pm 0,43$	$5,26 \pm 0,86$
Плотность [M±SD]	$1016,95 \pm 8,01$	$1016,57 \pm 8,0$	$1012 \pm 4,52$
Лейкоциты, ед. в п/з [M±SD]	$9,10 \pm 11,68$	$7,9 \pm 11,93$	$3,9 \pm 1,53$
Эритроциты, ед. в п/з [M±SD]	$24,07 \pm 33,04$ *	$18,41 \pm 33,04$	$1,27 \pm 0,35$

Общеклинический анализ крови			
Лейкоциты, 1×10^9 [M $\pm$ SD]	8,31 $\pm$ 2,92	8,31 $\pm$ 2,99	6,74 $\pm$ 1,13
Эритроциты, 1×10^{12} [M $\pm$ SD]	4,703 $\pm$ 0,58	4,73 $\pm$ 0,57	4,63 $\pm$ 0,62
Гемоглобин, г/л [M $\pm$ SD]	139,28 $\pm$ 14,56	139,95 $\pm$ 14,61	141,42 $\pm$ 20,94
Тромбоциты, 1×10^9 [M $\pm$ SD]	214,95 $\pm$ 33,57	214,25 $\pm$ 34,28	254,54 $\pm$ 46,43
Биохимический анализ крови			
АЛТ, ед/л [M $\pm$ SD]	24,32 $\pm$ 12,01	24,38 $\pm$ 12,30	20,13 $\pm$ 9,42
АСТ, ед/л [M $\pm$ SD]	26,68 $\pm$ 10,28	27,28 $\pm$ 10,13	23,53 $\pm$ 7,64
ГГТ, ед/л [M $\pm$ SD]	37,66 $\pm$ 16,44	37,67 $\pm$ 16,45	34,54 $\pm$ 14,21
Мочевая кислота, мкмоль/л [M $\pm$ SD]	355,3 $\pm$ 102,4	350,84 $\pm$ 103,19	265,42 $\pm$ 95,4
Глюкоза, ммоль/л [M $\pm$ SD]	5,85 $\pm$ 2,07	5,85 $\pm$ 2,07	4,31 $\pm$ 1,79
Мочевина, ммоль/л [M $\pm$ SD]	6,43 $\pm$ 2,87	6,36 $\pm$ 2,92	5,01 $\pm$ 2,14
Креатинин, мкмоль/л [M $\pm$ SD]	106,2 $\pm$ 29,52	107,02 $\pm$ 29,94	87,39 $\pm$ 24,94
Кальций ионизированный, ммоль/л [M $\pm$ SD]	1,71 $\pm$ 0,33*	1,27 $\pm$ 0,05	1,21 $\pm$ 0,03

* - сравнение между группой наблюдения №1 и контрольной группой;

** - сравнение между группой наблюдения №2 и контрольной группой;

*** - сравнение между группой наблюдения №1 и №2.

*- $p < 0,05$.

Также пациентам всех групп был проведено микробиологическое исследование мочи. В группе наблюдения №1 у 13,7% (10 участников) диагностирована значимая ($>10^4$ колоний образующих единиц в мл) бактериурия.

В группе наблюдения №2 у 7,14% (2 участника) выявлена значимая бактериурия ($>10^4$ колоний образующих единиц в мл). Флора в обеих группах была представлена *E. coli*. В контрольной группе у всех пациентов данных за бактериурию не получено.

Таблица 9.

Микробиологическое исследование мочи в группах сравнения

	Группа наблюдения № 1 [% (n)]	Группа наблюдения №2 [% (n)]	Контрольная группа [% (n)]
Бактериурия	13,7 (10)	7,14 (2)	нет

У всех пациентов, участвующих в исследовании, проведено обследование на предмет сопутствующей патологии. У 18 пациентов (24,64%) в группе наблюдения №1 имела место гипертоническая болезнь различных стадий, у 14 пациентов (19,17%) из группы наблюдения №1 до настоящего исследования уже установлена ишемическая болезнь сердца, у 3 пациентов (4,11%) из группы наблюдения №1 ранее был диагностирован сахарный диабет 2 типа. При анализе сопутствующей патологии в группе наблюдения №2 более чем у 30% пациентов диагностированы ишемическая болезнь сердца и гипертоническая болезнь в сочетании или по отдельности. В контрольной группе у четверти участников также выявлена ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь.

При анализе статистических данных выявлены статистически значимые различия между группой наблюдения №1 и контрольной группой по гипертонической болезни (I, II, III стадии) ($p=0,01$).

Данные о наличии сопутствующих заболеваний среди исследуемых пациентов приведены в таблице 10.

Таблица 10.

Сопутствующие заболевания среди исследуемых пациентов

Сопутствующее заболевание	Группа наблюдения № 1 [% (n)]	Группа наблюдения №2 [% (n)]	Контрольная группа [% (n)]
Ишемическая болезнь сердца	19,17 (14)	32,14 (9)	23,53 (12)
Гипертоническая болезнь I стадия	10,95 (8)*	14,28 (4)	5,88 (3)
Гипертоническая болезнь II стадия	10,95 (8)*	-	-
Гипертоническая болезнь III стадия	2,74 (2)*	3,57 (1)	-
Сахарный диабет 2 типа	4,11 (3)	-	-
Другие патологии сердечно-сосудистой системы	2,74 (2)	3,57 (1)	-
Другие патологии общего метаболизма	4,11 (3)	-	-
Другие патологии, связанные с возникновением новообразований	6,85 (5)	-	-

* - сравнение между группой наблюдения №1 и контрольной группой;

** - сравнение между группой наблюдения №2 и контрольной группой;

*** - сравнение между группой наблюдения №1 и №2.

*- $p < 0,05$.

3.2 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования

Всем пациентам, принимавших участие в исследовании, была проведено молекулярно-генетическое исследование на предмет наличия однонуклеотидных полиморфизмов в генах кандидатах.

3.2.1 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №1

При определении однонуклеотидного полиморфизма гена ОПГ (rs3134057) встречаемость генотипов была следующая (генотип AA – дикий): AA – 28,8% (21 человек), AG – 50,7% (37 человек), GG – 20,5% (15 человек); встречаемость аллелей: A – 54,1%, G – 45,9%. Для гена ESR1 (rs851982) встречаемость генотипов была следующая (генотип TT – дикий): TT – 31,5% (23 человека), TC – 43,8% (32 человека), CC – 24,7% (18 человек); встречаемость аллелей: T – 53,4%, C – 46,6%. Для гена KL (rs526906) встречаемость генотипов была следующая (генотип AA – дикий): AA – 10,9% (8 человек), AG – 50,7% (37 человек), GG – 38,4% (28 человек); встречаемость аллелей: A – 64,4%, G – 35,6%. Для гена VDR (rs1540339) встречаемость генотипов была следующая (генотип CC – дикий): CC – 28,8% (21 человек), CT – 53,4% (39 человек), TT – 17,8% (13 человек); встречаемость аллелей: C – 55,4%, T – 44,6%. Для гена CASR (rs2202127) встречаемость генотипов была следующая (генотип GG – дикий): GG – 10,8% (8 человек), GA – 42,5% (31 человек), AA – 46,7% (34 человека); встречаемость аллелей: G – 32,2%, A – 67,8%. Данные представлены в таблице 11, рисунках 13-22.

Таблица 11.

**Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения
№1**

Ген	Варианты генотипов и аллелей		Группа наблюдения №1		Контрольная группа		Уровень значимости различий с контрольной группой (p)
			Абс. число	Частота, %	Абс. число	Частота, %	
TNFRSF11B (rs3134057)	генотип	AA	21	28,8%	25	49%	0,046
		AG	37	50,7%	21	41,2%	
		GG	15	20,5%	5	9,8%	
	аллель	A	79	54,1%	71	69,6%	-
		G	67	45,9%	31	30,4%	
ESR1 (rs851982)	генотип	TT	23	31,5%	18	35,3%	0,44
		TC	32	43,8%	27	52,9%	
		CC	18	24,7%	6	11,8%	
	аллель	T	78	53,4%	63	61,8%	-
		C	68	46,6%	39	38,2%	
KL (rs526906)	генотип	AAA	8	10,9%	1	2%	0,044
		GGG	37	50,7%	13	25,2%	
			28	38,4%	37	72,5%	

	аллель	A	94	64,4%	87	85,3%	-
		G	52	35,6%	15	14,7%	
VDR (rs1540339)	генотип	CC	21	28,8%			0,82
		CT	39	53,4%	16	31,4%	
		TT	13	17,8%	23	45,1%	
					12	23,5%	
	аллель	C	81	55,4%	55	53,9%	-
		T	65	44,6%	47	46,1%	
CASR (rs2202127)	генотип	GGG	8	10,8%	8	15,7%	0,45
		AAA	31	42,5%	20	39,2%	
			34	46,7%	23	45,1%	
	аллель	G	47	32,2%	66	64,7%	-
		A	99	67,8%	36	35,3%	

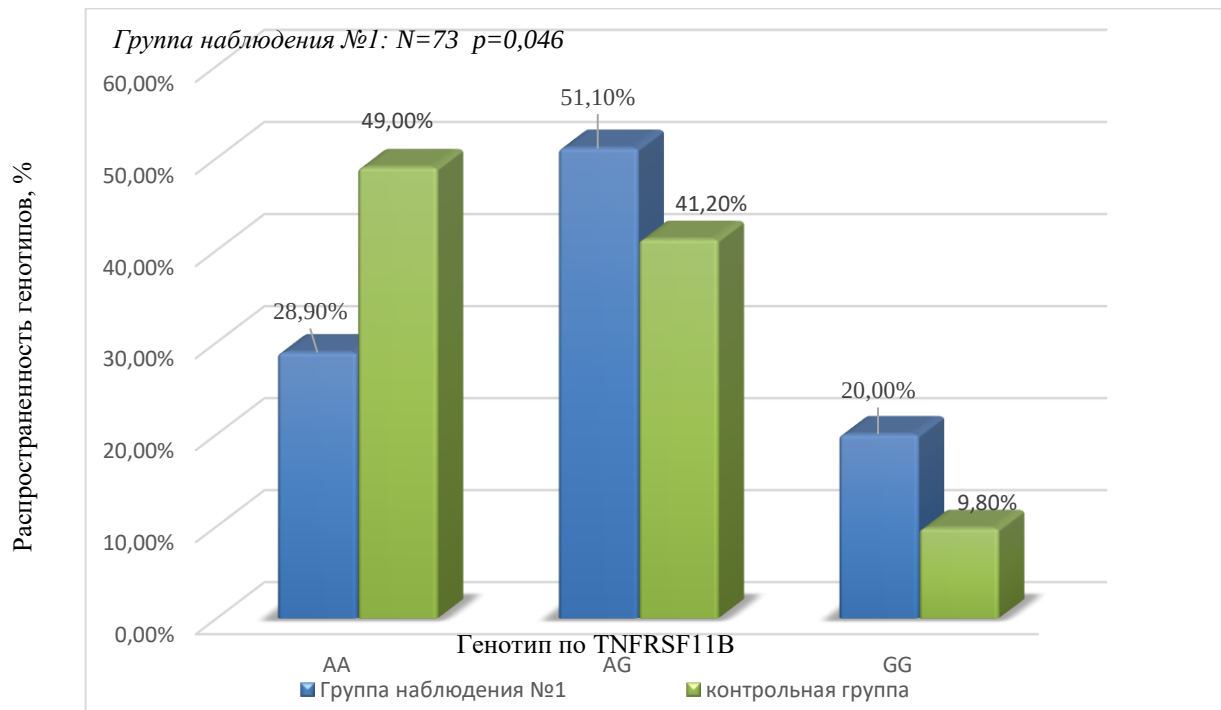


Рисунок 3. Распределение по генотипам для гена TNFRSF11B (rs3134057).

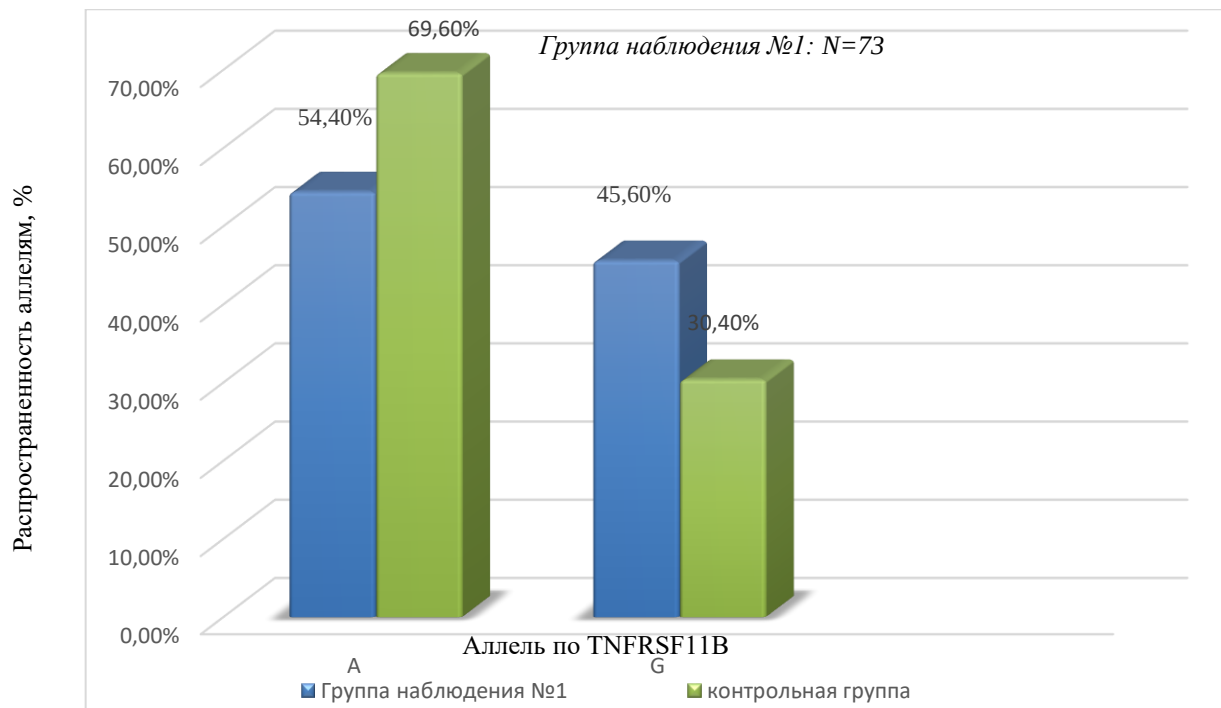


Рисунок 4. Распределение по аллелям для гена TNFRSF11B (rs3134057).

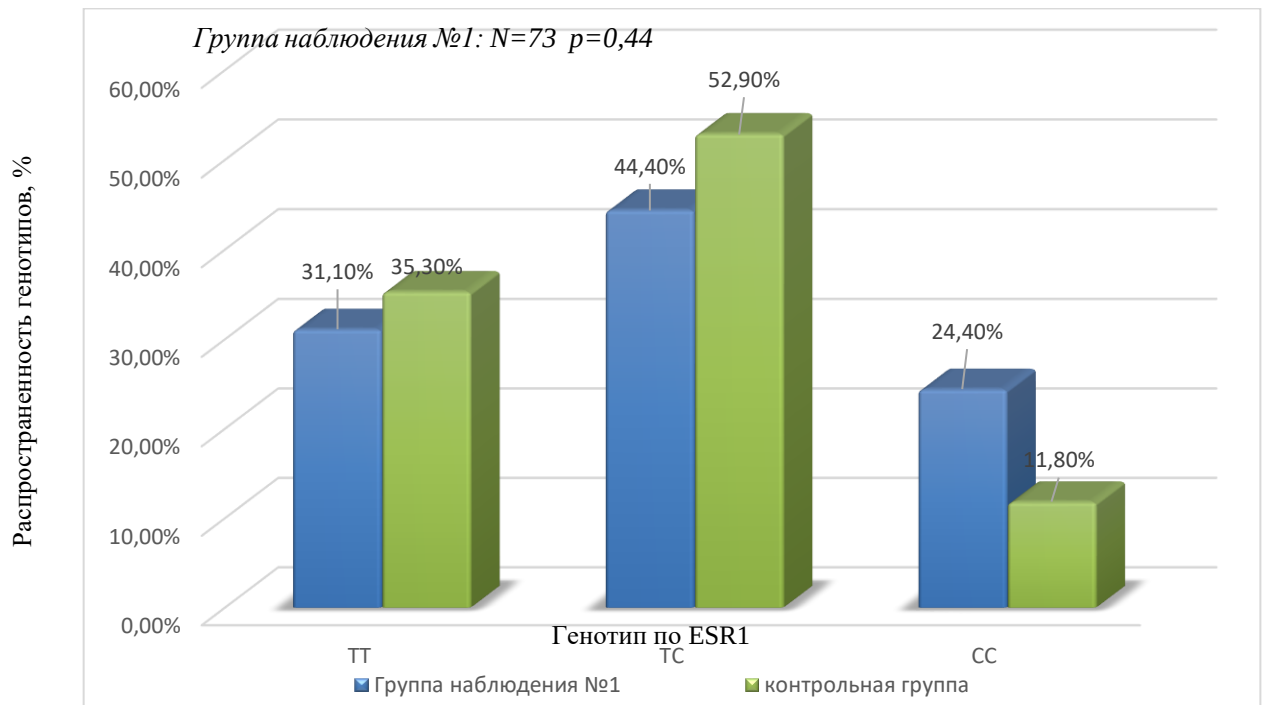


Рисунок 5. Распределение по генотипам для гена ESR1 (rs851982).

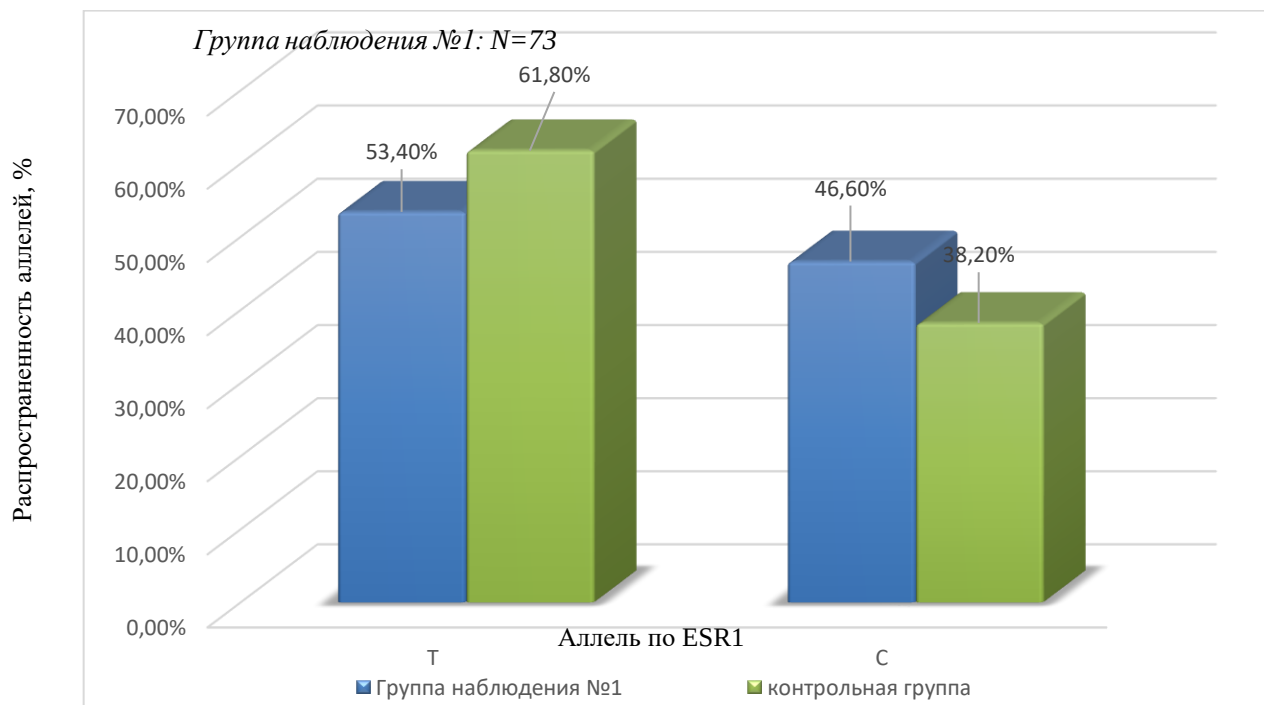


Рисунок 6. Распределение по аллелям для гена ESR1 (rs851982).

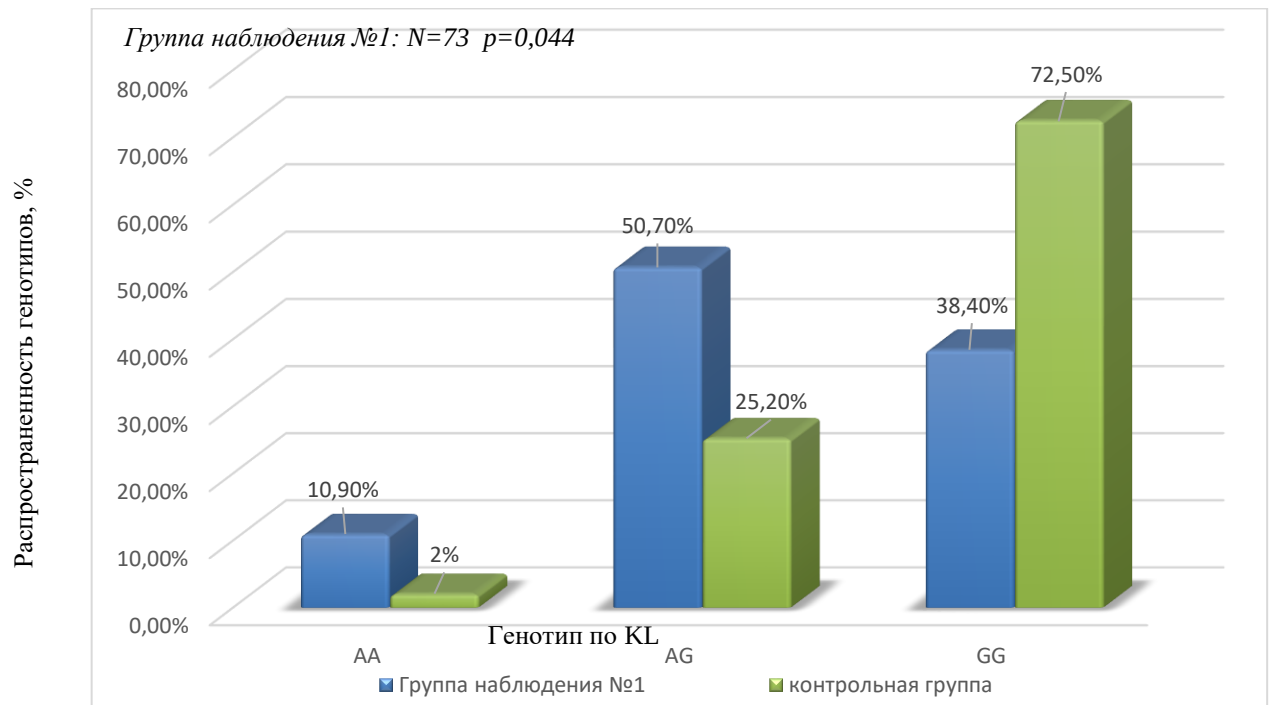


Рисунок 7. Распределение по генотипам для гена KL (rs526906).

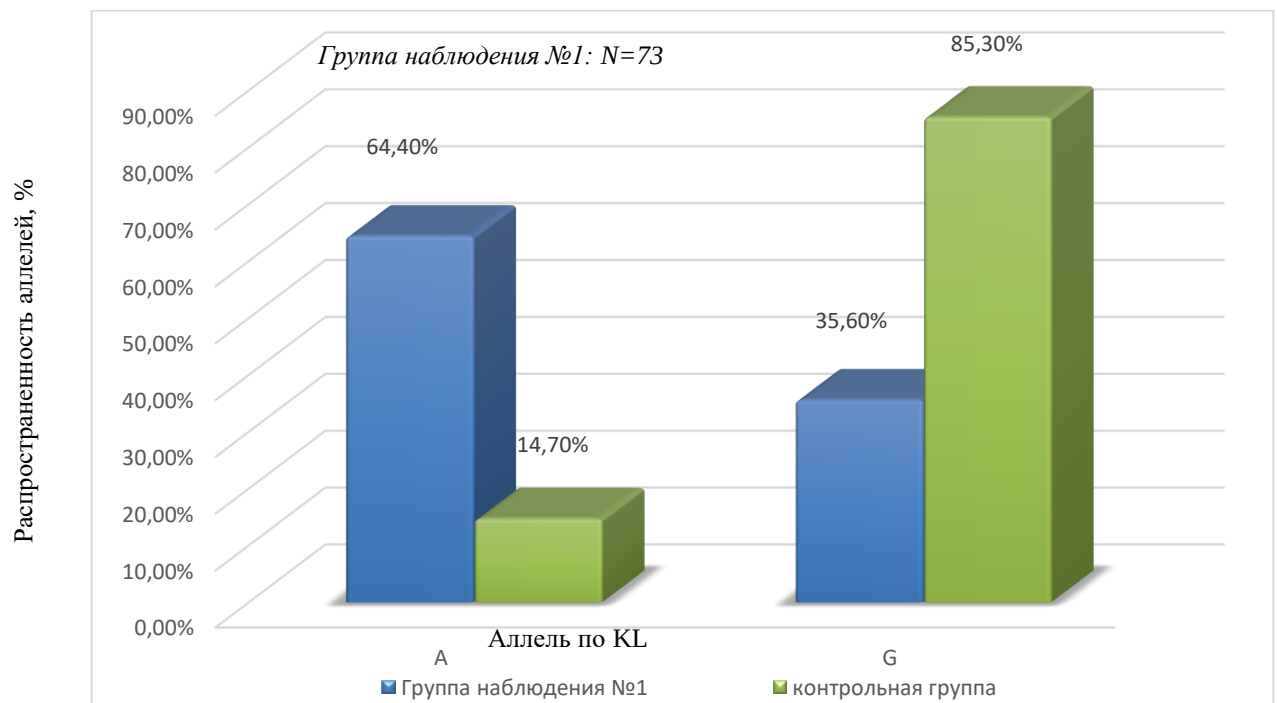


Рисунок 8. Распределение по аллелям для гена KL (rs526906).

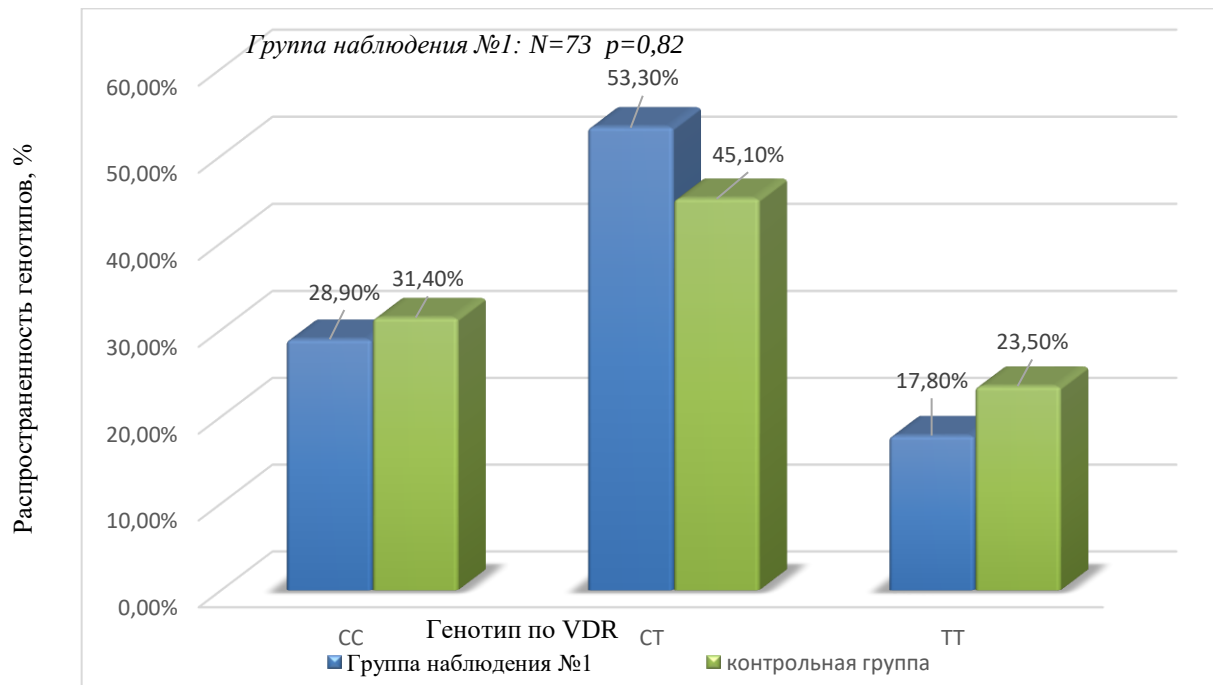


Рисунок 9. Распределение по генотипам для гена VDR (rs851982).

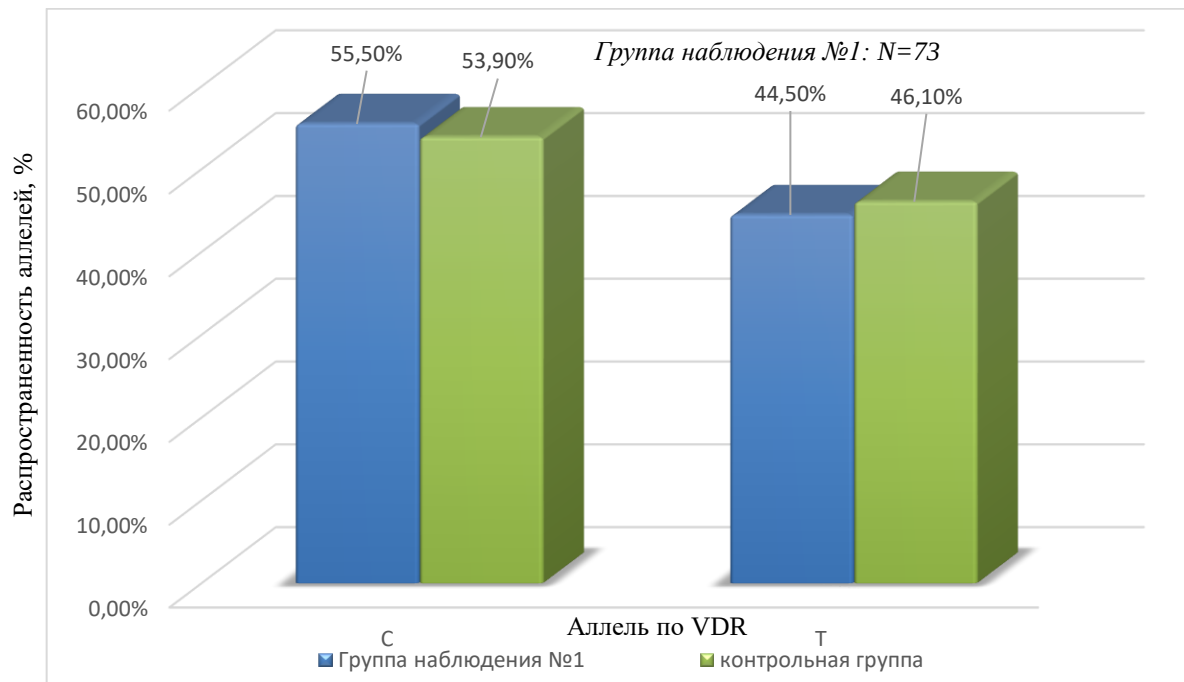


Рисунок 10. Распределение по аллелям для гена VDR (rs851982).

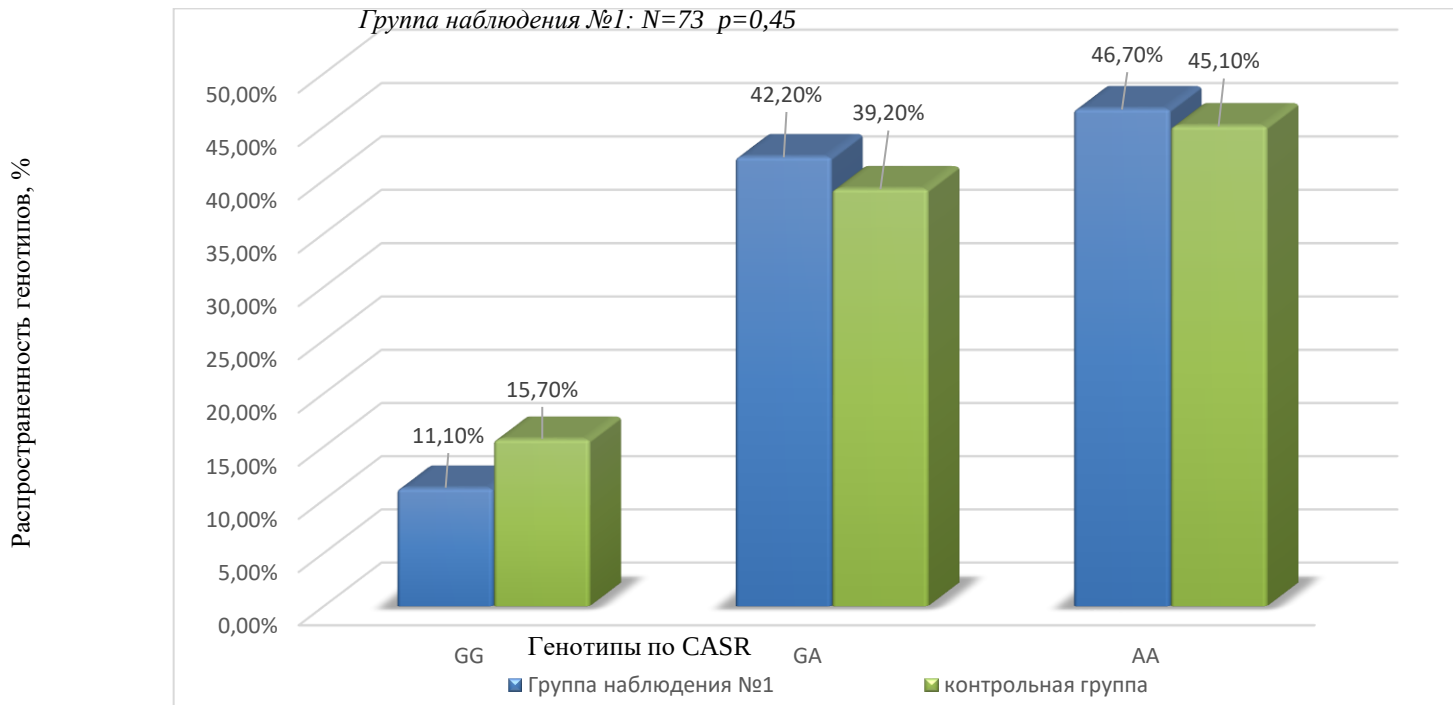


Рисунок 11. Распределение по генотипам для гена CASR (rs2202127).

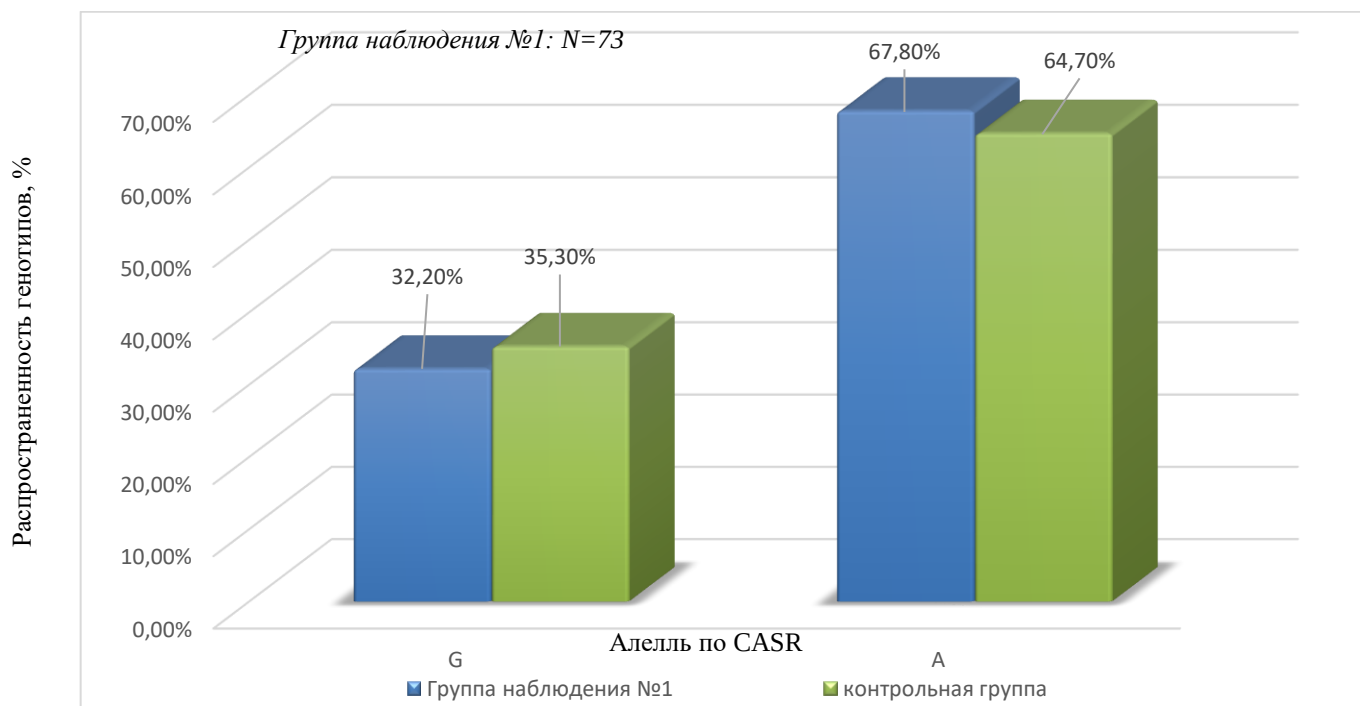


Рисунок 12. Распределение по аллелям для гена CASR (rs2202127).

При анализе полученных результатов с использованием статистических методов для гена остеопротегерина (rs3134057) получено, что различия в частоте

гомозиготного мажорного генотипа и частоте суммы гетерозиготного и гомозиготного минорного генотипов в контрольной выборке и выборке пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза (группа наблюдения №1) являются достоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,92; доверительный интервал (ДИ): 1,05–3,52; $p = 0,03$ (рисунок 13). Для гена альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (rs851982) выявлено, что отличия в частоте суммы гомозиготного дикого и гетерозиготного генотипов и частоте гомозиготного мутантного генотипа в контрольной выборке и выборке пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза (группа наблюдения №1) являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,42; доверительный интервал (ДИ): 0,79–2,54; $p = 0,24$. Для гена Клоута (rs526906) выявлено, что отличия в частоте суммы гомозиготного дикого и гетерозиготного генотипов и частоте гомозиготного мутантного генотипа в контрольной группе и группе пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза (группа наблюдения №1) являются достоверными: отношение шансов (ОШ) – 3,17; доверительный интервал (ДИ): 1,26–7,96; $p = 0,013$ (рисунок 14). Для гена рецептора витамина Д (rs1540339) получены данные о различии в частоте суммы гомозиготного мажорного и гетерозиготного генотипов и частоте гомозиготного минорного генотипа в контрольной выборке и выборке пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза (группа наблюдения №1) являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,73; доверительный интервал (ДИ): 0,54 – 5,55; $p = 0,34$. Для гена внеклеточного кальций-чувствительного рецептора (rs2202127) выявлено, что отличия в частоте суммы гомозиготного дикого и гетерозиготного генотипов и частоте гомозиготного мутантного генотипа в контрольной выборке и выборке пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза (группа наблюдения №1) являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 0,88; доверительный интервал (ДИ): 0,5–1,57; $p = 0,67$. Результаты статистического анализа представлены в таблице 12.

Таблица 12.

Результаты статистического анализа для группы наблюдения №1

Ген	Генотип	SNP	ОШ (95% ДИ)	Значение p
TNFRSF11B	AA vs. AG+GG	rs3134057	1,92 (1,05 – 3,52)	0,031
ESR1	TT+TC vs. CC	rs851982	1,42 (0,79 – 2,54)	0,24
VDR	CC+ TC vs. TT	rs1540339	1,73 (0,54 – 5,55)	0,34
CASR	GG vs. GA+AA	rs2202127	0,88 (0,50 – 1,57)	0,67
KL	AA+AG vs. GG	rs526906	3,17 (1,26 – 7,96)	0,013

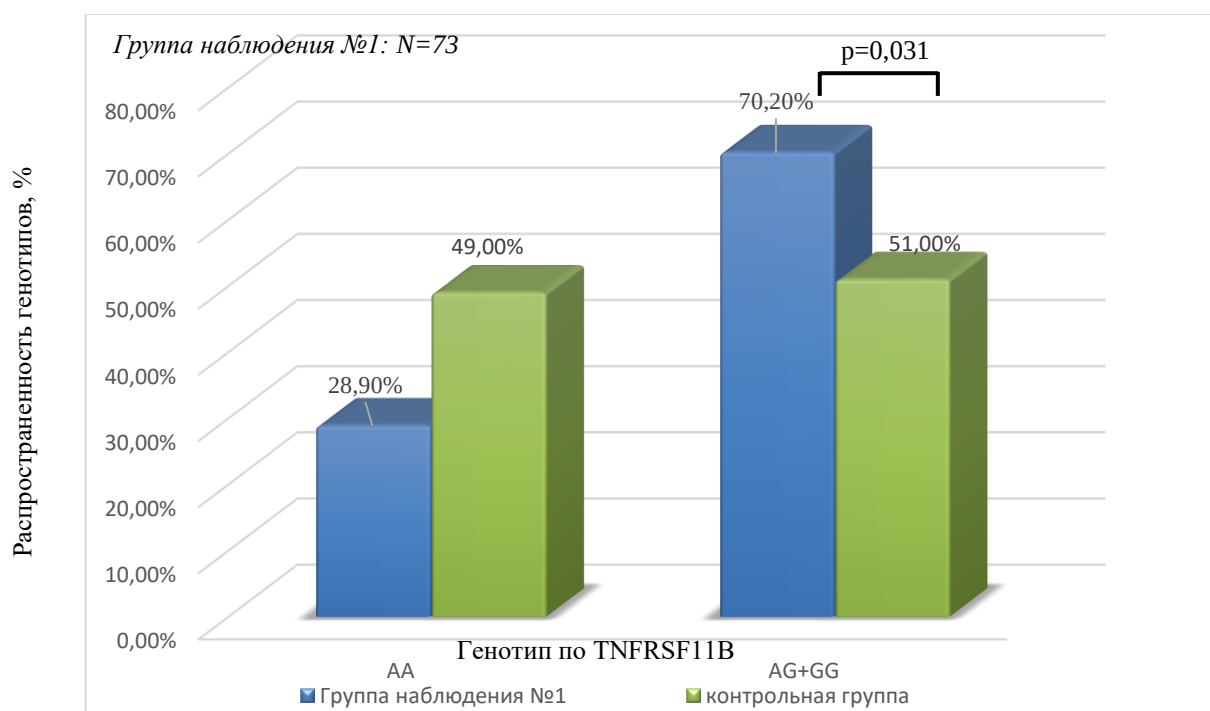


Рисунок 13. Распределение по генотипам (AA vs. AG+GG) для гена TNFRSF11B (rs3134057).

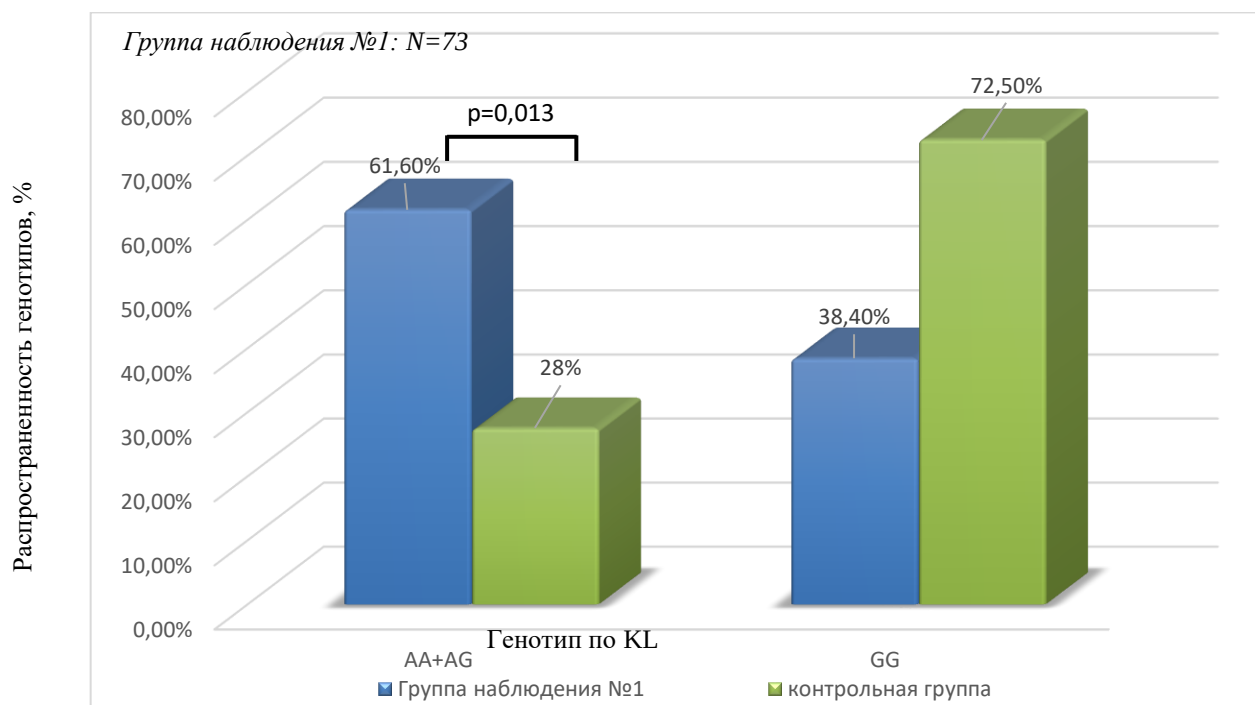


Рисунок 14. Распределение по генотипам (AA+AG vs. GG) для гена KL (rs526906).

3.2.2 Результаты проведения молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №2

При определении однонуклеотидного полиморфизма гена ОПГ (rs3134057) встречаемость генотипов была следующая: AA – 31% (9 человек), AG – 55,2% (15 человек), GG – 13,8% (4 человека); встречаемость аллелей: А – 58,6%, G – 41,4%. Для гена ESR1 (rs851982) встречаемость генотипов была следующая: TT – 32,1% (9 человек), TC – 53,6% (15 человек), CC – 14,3% (4 человека); встречаемость аллелей: Т – 58,9%, С – 41,1%. Для гена KL (rs526906) встречаемость генотипов была следующая: AA – 10,7% (3 человека), AG – 28,6% (8 человек), GG – 60,7% (17 человек); встречаемость аллелей: А – 60,7%, G – 39,3%. Для гена VDR (rs1540339) встречаемость генотипов была следующая: CC – 21,4% (6 человек), CT – 46,4% (13 человек), TT – 32,1% (9 человек); встречаемость аллелей: С – 44,6%, Т – 55,4%. Для гена CASR (rs2202127) встречаемость генотипов была следующая: GG – 10,7% (3 человека), GA – 42,9% (12 человек), AA – 46,4% (13 человек); встречаемость аллелей: G – 32,1%, А – 67,9%. Данные представлены в таблице 13, рисунках 15-24.

Таблица 13.

**Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения
№2**

Ген	Варианты генотипов и аллелей		Группа наблюдения №2		Контрольная группа		Уровень значимости различий с контрольной группой (p)
			Абс. число	Частота, %	Абс. число	Частота, %	
TNFRSF11B (rs3134057)	генотип	AA	9	31,0%	25	49%	0,23
		AG	15	55,2%	21	41,2%	
		GG	4	13,8%	5	9,8%	
	аллель	A	34	58,6%	71	69,6%	-
		G	24	41,4%	31	30,4%	
	генотип	TT	9	32,1%	18	35,3%	0,71
		TC	15	53,6%	27	52,9%	
		CC	4	14,3%	6	11,8%	
	аллель	T	33	58,9%	63	61,8%	-
		C	23	41,1%	39	38,2%	

KL (rs526906)	генотип	AA	3	10,7%	1	2%	0,95
		AGG	8	28,6%	13	25,2%	
		G	17	60,7%	37	72,5%	
	аллель	A	22	39,3%	15	14,7%	-
		G	34	60,7%	87	85,3%	
VDR (rs1540339)	генотип	CC	6	21,4%	16	31,4%	0,71
		CT	13	46,4%	23	45,1%	
		TT	9	32,1%	12	23,5%	
	аллель	C	25	44,6%	55	53,9%	-
		T	31	55,4%	47	46,1%	
CASR (rs2202127)	генотип	GGG	3	10,7%	8	15,7%	0,69
		AAA	12	42,9%	20	39,2%	
			13	46,4%	23	45,1%	
	аллель	G	18	32,1%	66	64,7%	-
		A	38	67,9%	36	35,3%	

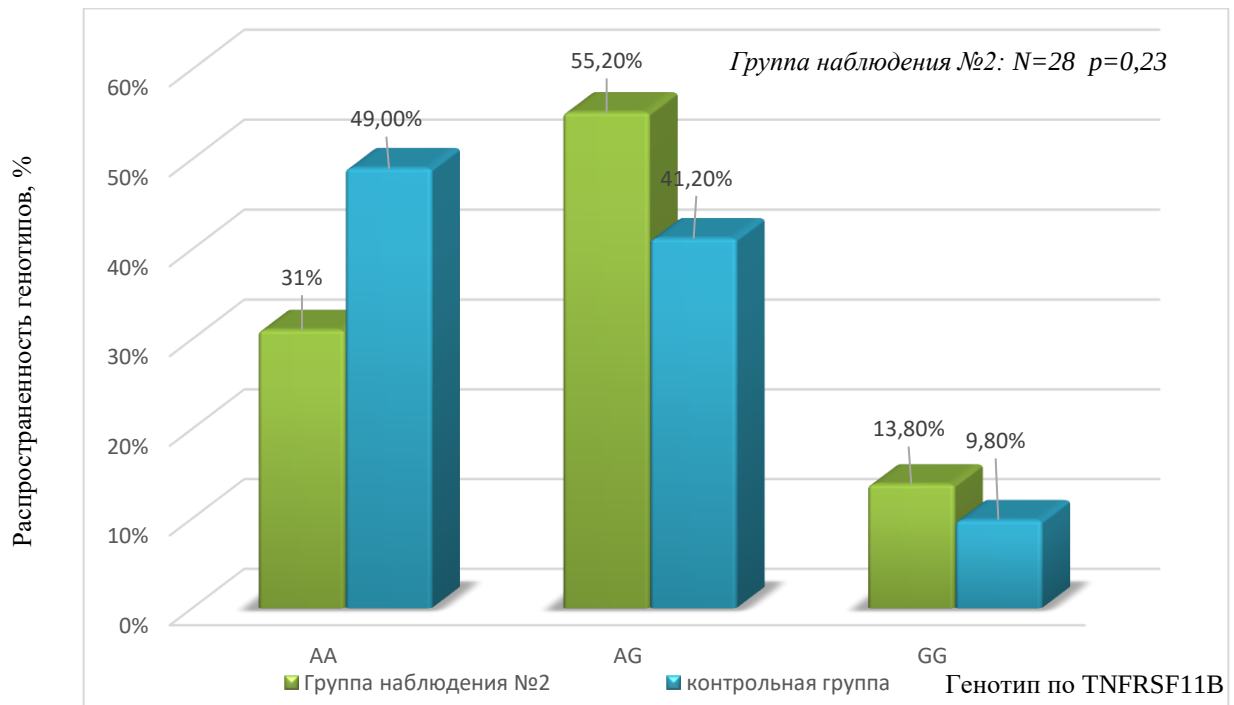


Рисунок 15. Распределение по генотипам для гена TNFRSF11B (rs3134057).

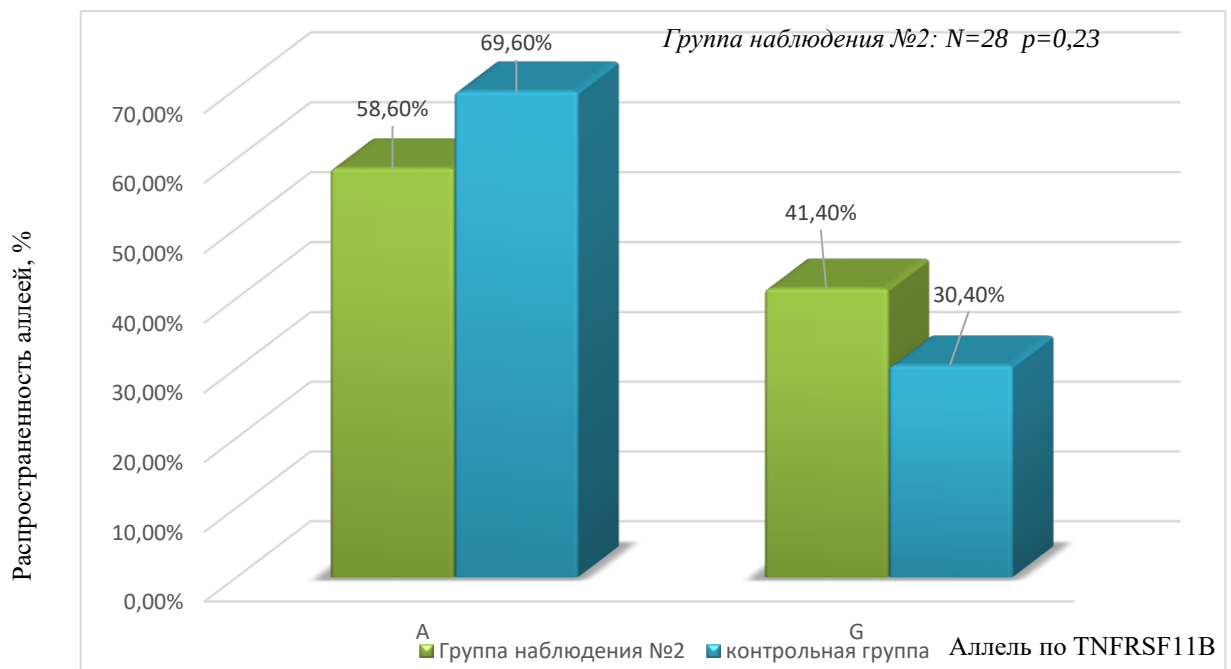


Рисунок 17. Распределение по аллелям для гена TNFRSF11B (rs3134057).

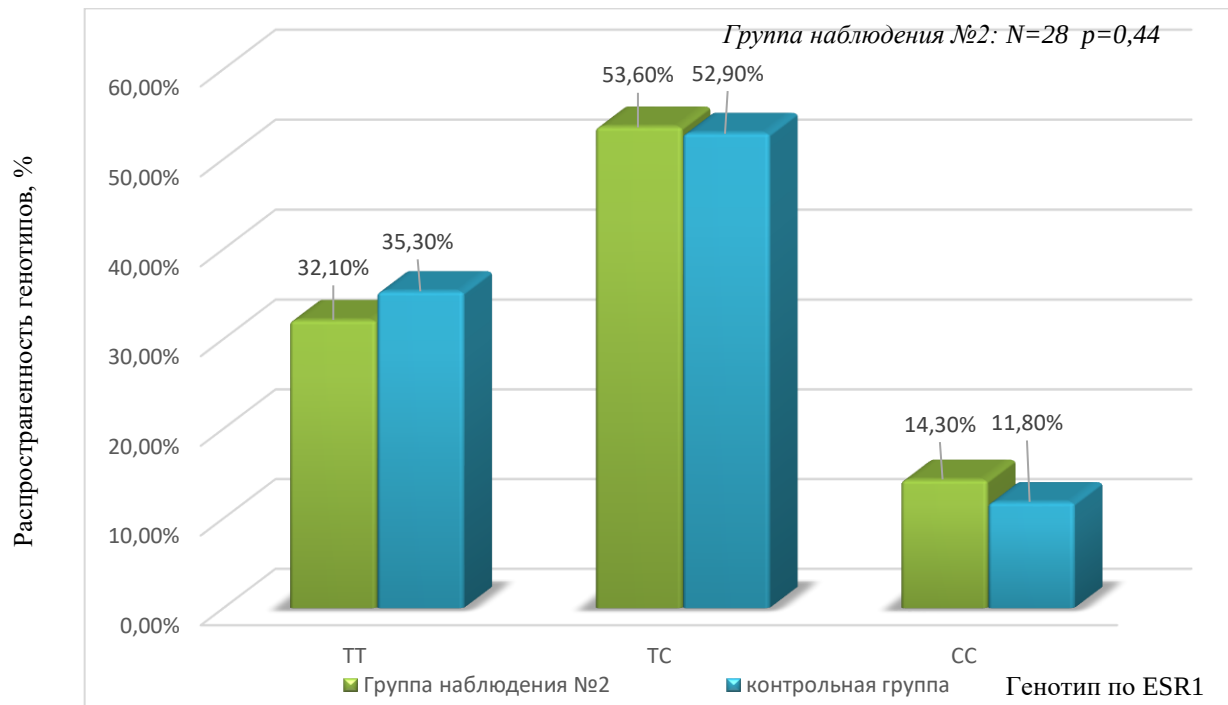


Рисунок 17. Распределение по генотипам для гена ESR1 (rs851982).

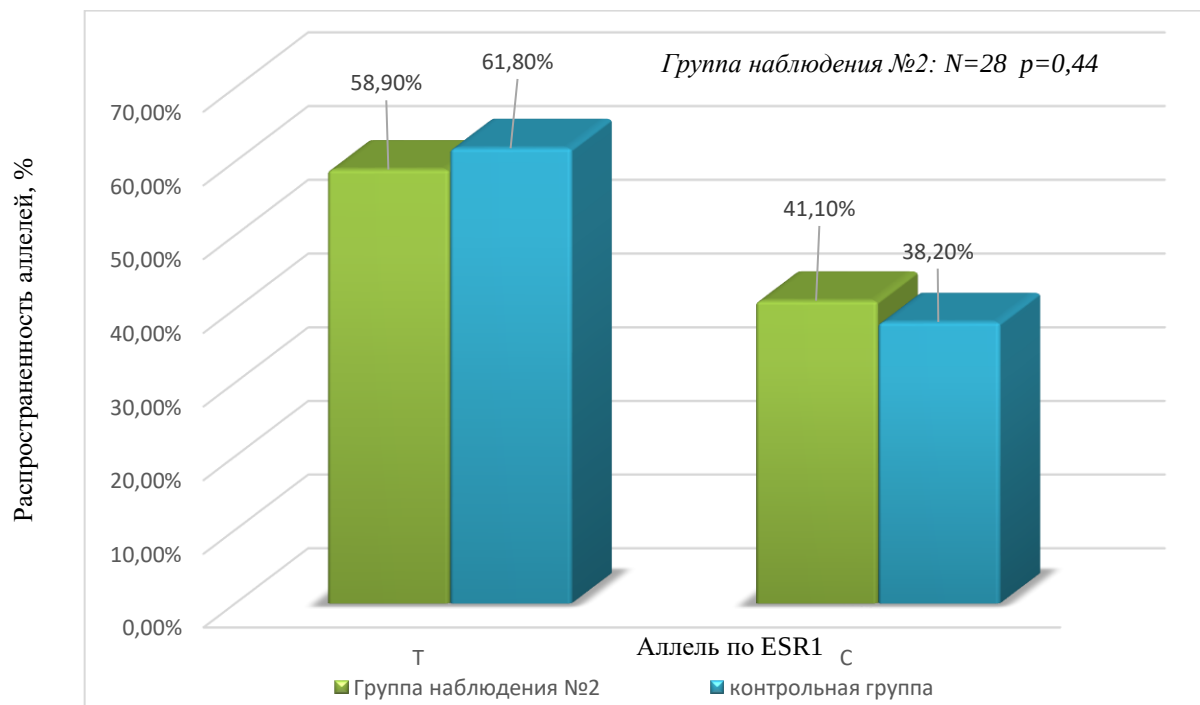


Рисунок 18. Распределение по аллелям для гена ESR1 (rs851982).

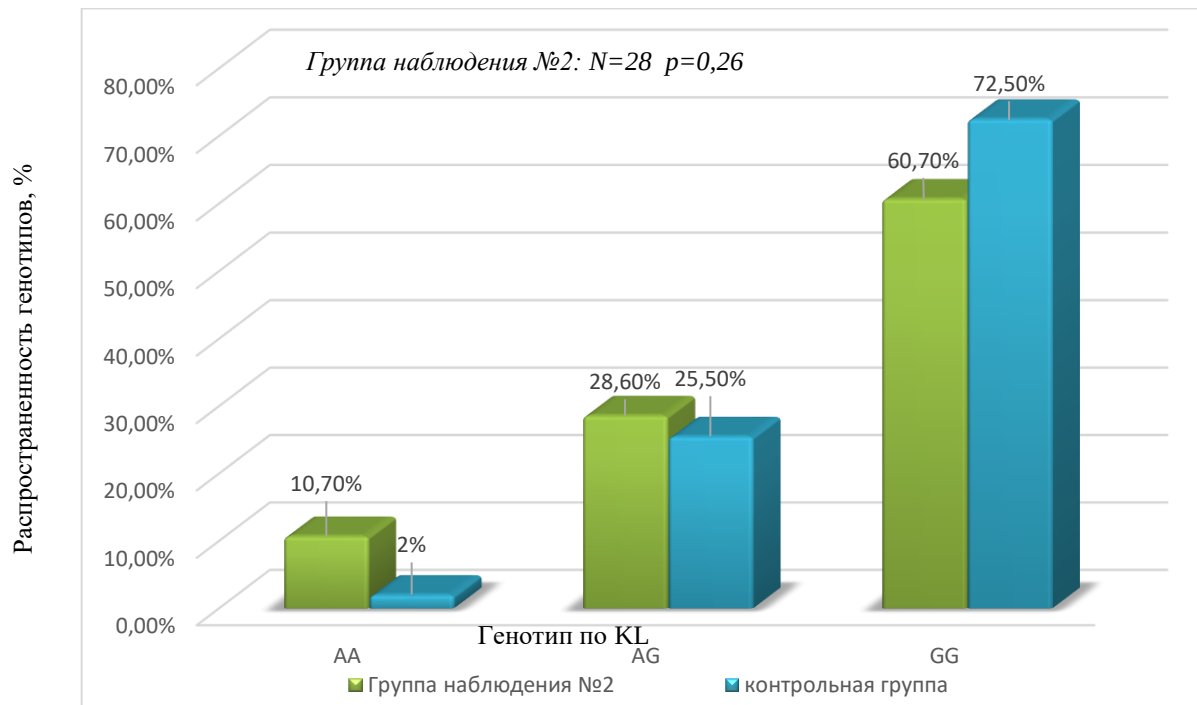


Рисунок 19. Распределение по генотипам для гена KL (rs526906).

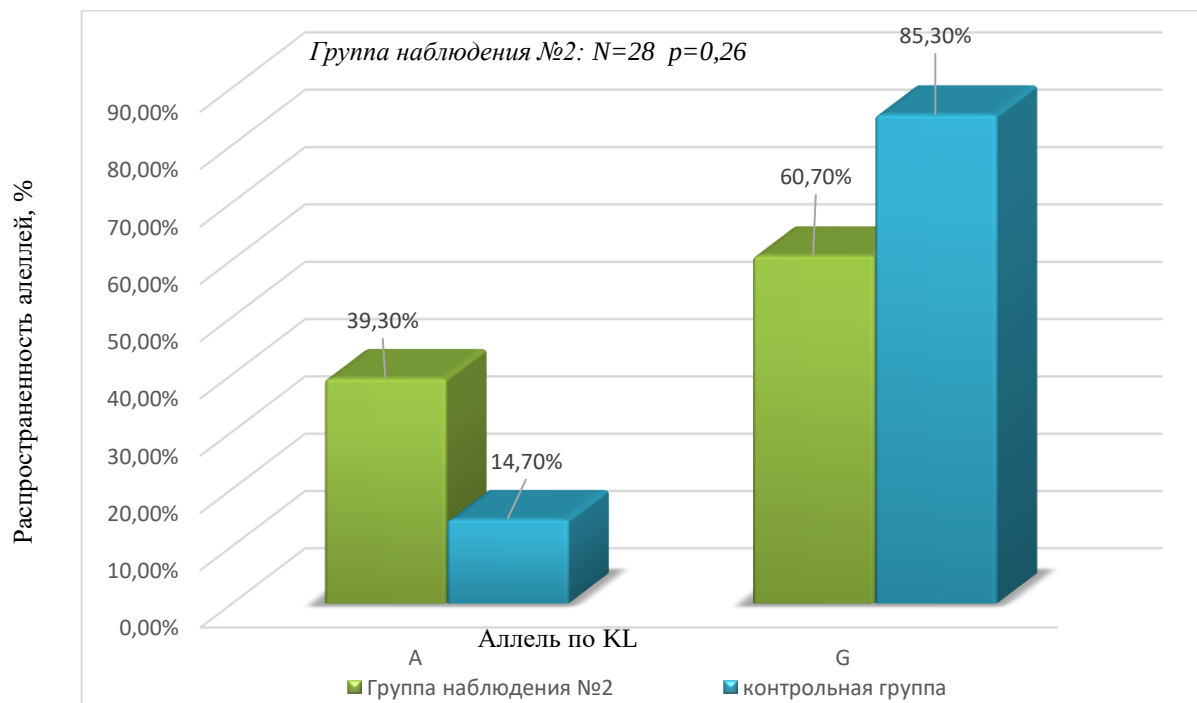


Рисунок 20. Распределение по аллелям для гена KL (rs526906).

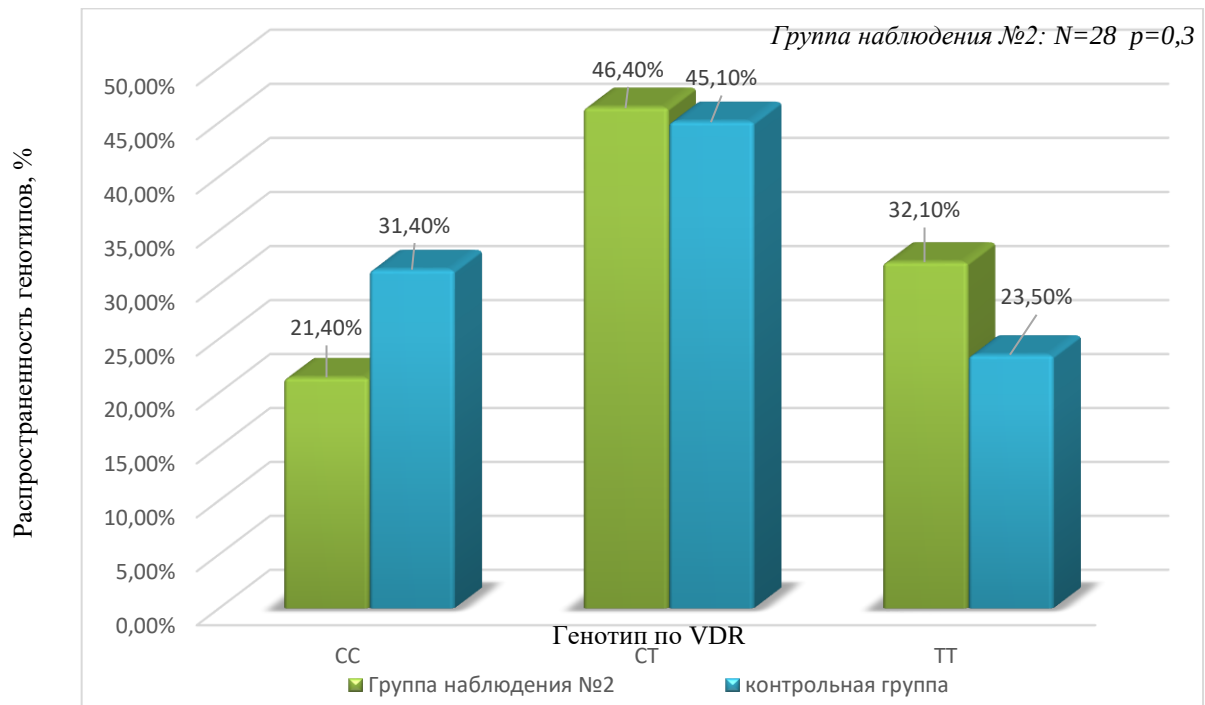


Рисунок 21. Распределение по генотипам для гена VDR (rs851982).

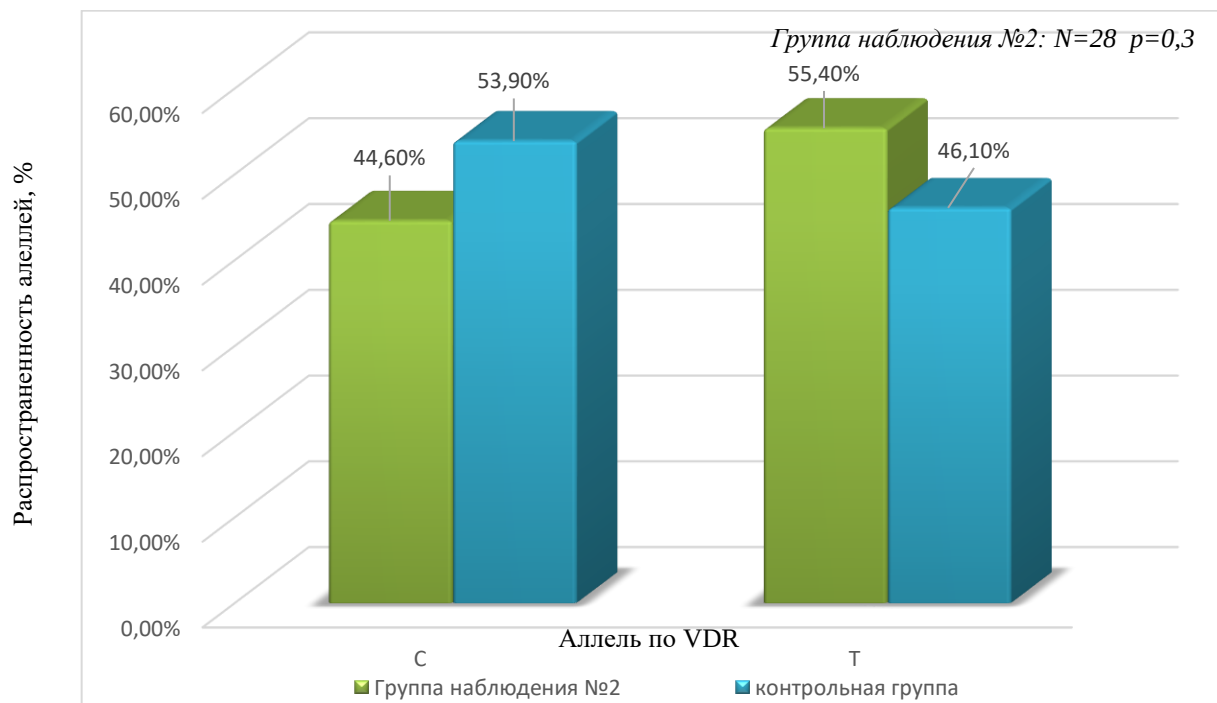


Рисунок 22. Распределение по аллелям для гена VDR (rs851982).

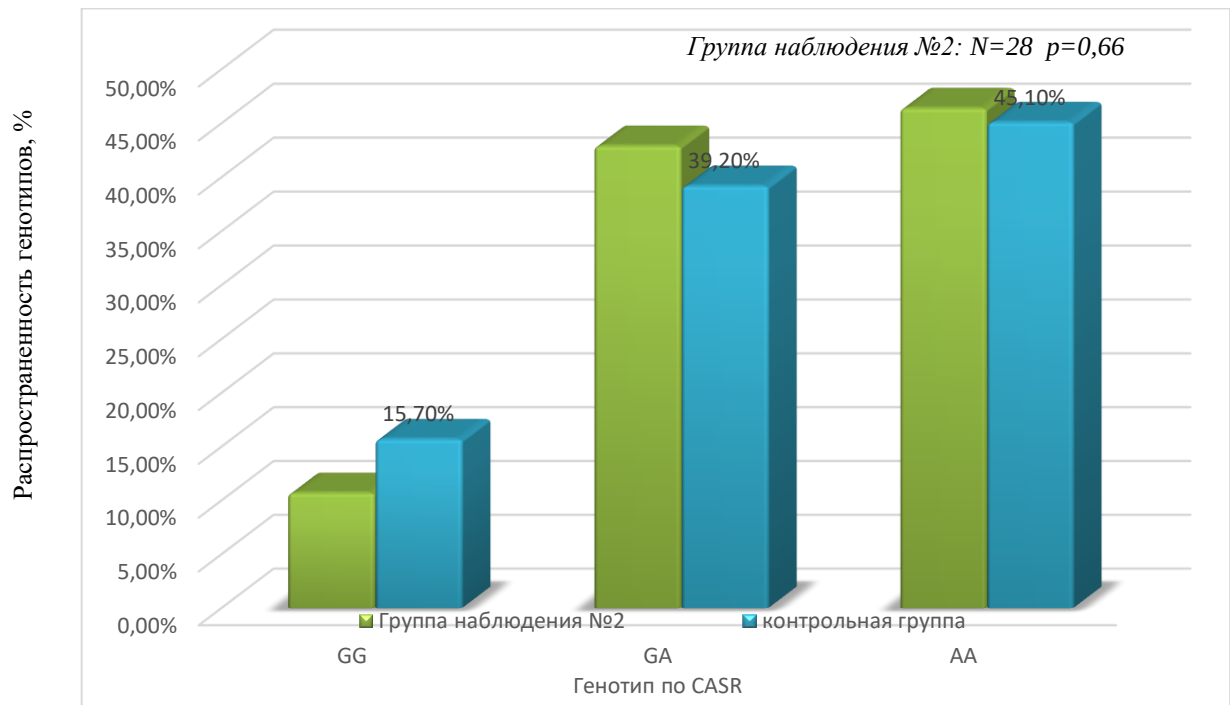


Рисунок 23. Распределение по генотипам для гена CASR (rs2202127).

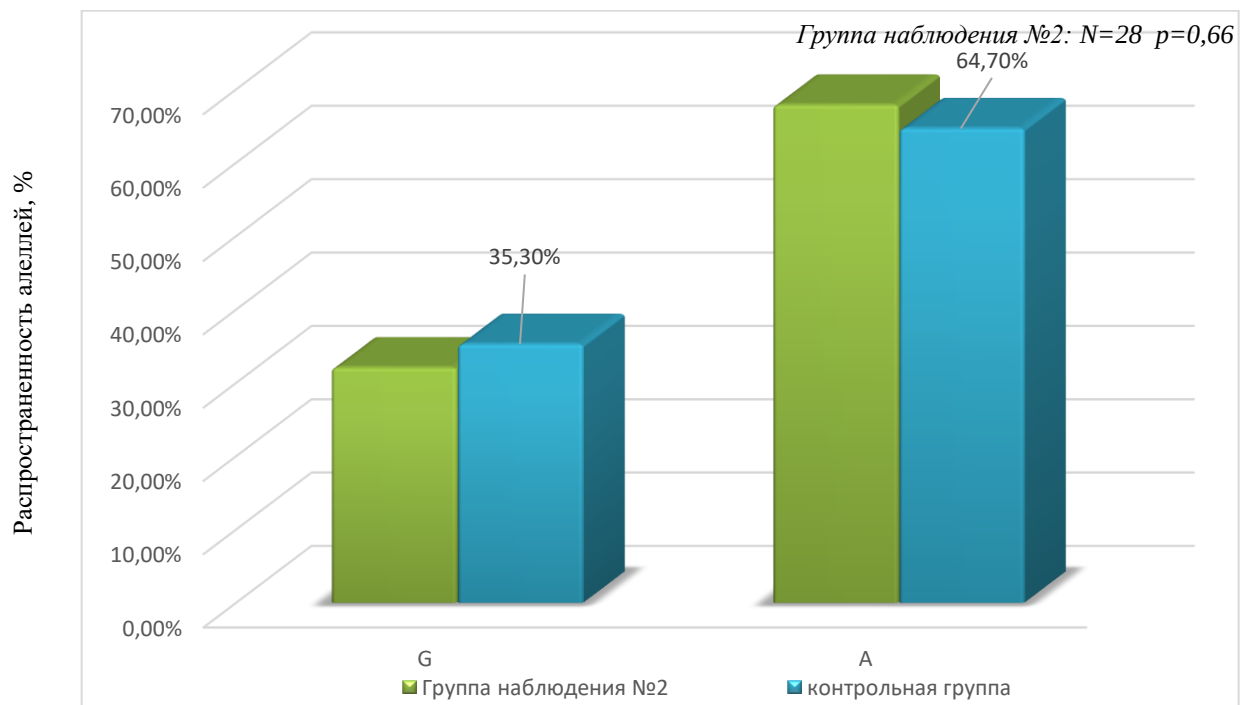


Рисунок 24. Распределение по аллелям для гена CASR (rs2202127).

В ходе статистического анализа гена остеопротегерина (rs3134057) было установлено, что различия в частоте генотипов между контрольной группой и группой пациентов, перенесших единичный эпизод почечной колики с последующим оперативным лечением или самостоятельным отхождением кальций-оксалатного конкремента, являются статистически недостоверными. На момент проведения настоящего исследования в мочевыделительной системе у пациентов не выявлены конкременты, а отношение шансов (ОШ) составило 1,48; доверительный интервал (ДИ): 0,77–2,85 $p = 0,61$. Для гена альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (rs851982) было установлено, что различия в частоте генотипов между контрольной группой и пациентами из группы перенесших единичный эпизод почечной колики, который был разрешен оперативным лечением, либо завершился самостоятельным отхождением кальций-оксалатного конкремента, не являются достоверными. Отношение шансов (ОШ) составляет 1,3; доверительный интервал (ДИ): 0,67–2,52; $p = 0,3$. Для гена Клота (rs526906) было установлено, что различия в частоте генотипов между контрольной группой и группой пациентов, перенесших единичный эпизод почечной колики, который был либо устранён оперативным путём, либо завершился самоотхождением кальций-оксалатного конкремента, являются статистически незначимыми: отношение шансов (ОШ) составляет 0,87; доверительный интервал (ДИ): 0,47–1,62; $p = 0,89$. Для гена рецептора витамина D (rs1540339) было установлено, что различия в частоте генотипов между контрольной группой и группой пациентов, перенесших единичный эпизод почечной колики, который был либо устранён оперативным путём, либо завершился самоотхождением кальций-оксалатного конкремента, являются статистически незначимыми: отношение шансов (ОШ) составляет 1,51; доверительный интервал (ДИ) — 0,73–3,13; $p = 0,45$. Для гена внеклеточного кальций-рецептора (rs2202127) было установлено, что различия в частоте генотипов между контрольной группой и пациентами из группы, перенесших единичный эпизод почечной колики, который был либо устранён оперативным путём, либо завершился самостоятельным отхождением кальций-оксалатного

конкремента, не имеют статистической значимости: отношение шансов (ОШ) составило 1,38; доверительный интервал (ДИ) – 0,75–2,52; $p = 0,66$. Результаты статистического анализа представлены в таблице 14.

Таблица 14.

Результаты статистического анализа для группы наблюдения №2

Ген	Генотип	SNP	ОШ (95% ДИ)	Значение p
TNFRSF11B	AG+GG vs. AA	rs3134057	1,48 (0,77 – 2,85)	0,61
ESR1	TT+TC vs. CC	rs851982	1,30 (0,67 – 2,52)	0,3
VDR	CC+CT vs. TT	rs1540339	1,51 (0,73 – 3,13)	0,45
CASR	GA+AA vs. GG	rs2202127	1,38 (0,75 – 2,52)	0,66
KL	AG+GG vs. AA	rs526906	0,87 (0,47 – 1,62)	0,89

3.2.3 Сравнение результатов молекулярно-генетического исследования в группах наблюдения №1 и №2

В ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена остеопротегерина (rs3134057) в группах наблюдения №1 и №2, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 2,19; доверительный интервал (ДИ): 1,23–4,02, $p = 0,5$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (rs851982) в группах наблюдения №1 и №2, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных

групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,15; доверительный интервал (ДИ): 0,62–2,12, $p = 0,66$. Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена Клота (rs526906) в группах наблюдения №1 и №2, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 2,99; доверительный интервал (ДИ): 1,42–6,87, $p = 0,1$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена рецептора витамина Д (rs1540339) в группах наблюдения №1 и №2, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 0,76; доверительный интервал (ДИ): 0,41–1,38, $p = 0,36$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена внеклеточного кальций-рецептора (rs2202127) в группах наблюдения №1 и №2, было выявлено, что различия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,13; доверительный интервал (ДИ): 0,59–2,14, $p = 0,71$.

Результаты молекулярно-генетического исследования представлены в таблице 15. Результаты статистического анализа представлены в таблице 16.

Таблица 15.

Результаты генотипирования в группах наблюдения №1 и №2

Ген	Варианты генотипов и аллелей		Группа наблюдения №1		Группа наблюдения №2		Уровень значимости различий с контрольной группой (p)
			Абс. число	Частота, %	Абс. число	Частота, %	
TNFRSF11B (rs3134057)	генотип	AA	21	28,8%	9	31,0%	0,48
		AG	37	50,7%	15	55,2%	
		GG	15	20,5%	4	13,8%	
	аллель	A	79	54,1%	34	58,6%	-
		G	67	45,9%	24	41,4%	
ESR1 (rs851982)	генотип	CC	18	24,7%	4	14,3%	0,7
		CT	32	43,8%	15	53,6%	
		TT	23	31,5%	9	32,1%	
	аллель	C	68	46,6%	23	41,1%	-
		T	78	53,4%	33	58,9%	
KL (rs526906)	генотип	AA	8	10,9%	3	10,7%	0,13
		AG	37	50,7%		28,6%	

		GG	28	38,4%	8	60,7%	
					17		
	аллель	A	94	64,4%	22	39,3%	-
		G	52	5,6%	34	60,7%	
VDR (rs1540339)	генотип	CC	21	28,8%	6	21,4%	0,56
		CT	39	53,4%	13	46,4%	
		TT	13	17,8%	9	32,1%	
	аллель	C	81	55,4%	25	44,6%	-
		T	65	44,6%	31	55,4%	
CASR (rs2202127)	генотип	GG	8	10,8%	3	10,7%	0,89
		GA	31	42,5%	12	42,9%	
		AA	34	46,7%	13	46,4%	
	аллель	G	47	32,2%	18	32,1%	-
		A	99	67,8%	38	67,9%	

Таблица 16.

Результаты статистического анализа для групп наблюдения №1 и №2

Ген	Генотип	SNP	ОШ (95% ДИ)	Значение p
TNFRSF11B	AA+GA vs. GG	rs3134057	2,19 (1,23 – 4,02)	0,5

ESR1	TT+TC vs. CC	rs851982	1,15 (0,62 – 2,12)	0,66
KL	GG+AA vs. GA	rs526906	2,99 (1,42 – 6,87)	0,1
VDR	TC+TT vs. CC	rs1540339	0,76 (0,41 – 1,38)	0,36
CASR	AA+GA vs. GG	rs2202127	1,13 (0,59 – 2,14)	0,71

3.2.4 Сравнение результатов молекулярно-генетического исследования в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе.

В ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена остеопротегерина (rs3134057) в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 0,41; доверительный интервал (ДИ): 0,14 – 1,2, $p = 0,091$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена альфасубъединицы ядерного рецептора эстрогенов (rs851982) в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 0,69; доверительный интервал (ДИ): 0,23 – 2,15, $p = 0,53$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена Клота (rs526906) в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 2,83; доверительный интервал (ДИ): 0,91 – 8,82, $p = 0,061$. Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена рецептора

витамина Д (rs1540339) в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,73; доверительный интервал (ДИ): 0,54 – 5,55, $p = 0,34$.

Также в ходе исследования был проведен статистический анализ результатов молекулярно-генетического исследования для гена внеклеточного кальций-рецептора (rs2202127) в группах наблюдения №1, №2 и контрольной группе, по результатам которого выявлено, что отличия в частоте генотипов выборок пациентов данных групп являются недостоверными: отношение шансов (ОШ) – 1,44; доверительный интервал (ДИ): 0,34 – 6,09, $p = 0,62$.

Результаты молекулярно-генетического исследования представлены в таблице 17. Результаты статистического анализа представлены в таблице 18.

Таблица 17.

Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №1, 2 и контрольной группе

Ген	Варианты генотипов и аллелей		Группа наблюдения №1		Группа наблюдения №2		Контрольная группа		Уровень значимости различий с контрольной группой (p)
			Абс. число	Частота, %	Абс. число	Частота, %	Абс. число	Частота, %	
TNFRSF11B (rs3134057)	генотип	AA	21	28,8%	9	31,0%	25	49%	0,23
		AG	37	50,7%	15	55,2%	21	41,2%	
		GG	15	20,5%	4	13,8%	5	9,8%	

	аллель	A	79	54,1%	34	58,6%	71	69,6%	-
		G	67	45,9%	24	41,4%	31	30,4%	
ESR1 (rs851982)	генотип	CC	18	24,7%	4	14,3%	6	11,8%	0,71
		CT	32	43,8%	15	53,6%	27	52,9%	
		TT	23	31,5%	9	32,1%	18	35,3%	
	аллель	C	68	46,6%	23	41,1%	39	38,2%	-
T		78	53,4%	33	58,9%	63	61,8%		
KL (rs526906)	генотип	AA	8	10,9%	3	10,7%	1	2%	0,95
		AG	37	50,7%	8	28,6%	13	25,2%	
		GG	28	38,4%	17	60,7%	37	72,5%	
	аллель	A G	94	64,4%3	22	39,3%	15	14,7%	-
52		5,6%	34	60,7%	87	85,3%			
VDR (rs1540339)	генотип	CC	21	28,8%	6	21,4%	16	31,4%	0,71
		CT	39	53,4%	13	46,4%	23	45,1%	
		TT	13	17,8%	9	32,1%	12	23,5%	
	аллель	C	81	55,4%	25	44,6%	55	53,9%	-
T		65	44,6%	31	55,4%	47	46,1%		

CASR (rs2202127)	генотип	GG	8	10,8%	3	10,7%	8	15,7%	0,69
		GA	31	42,5%	12	42,9%	20	39,2%	
		AA	34	46,7%	13	46,4%	23	45,1%	
	аллель	G	47	32,2%	18	32,1%	66	64,7%	-
		A	99	67,8%	38	67,9%	36	35,3%	

Таблица 18.

Результаты статистического анализа для групп наблюдения №1, 2 и контрольной.

Ген	Генотип	SNP	ОШ (95% ДИ)	Значение p
TNFRSF11B	AA vs. GA+GG	rs3134057	0,41 (0,14 – 1,2)	0,091
ESR1	TT+TC vs. CC	rs851982	0,69 (0,23 – 2,15)	0,53
KL	AA+GG vs. GA	rs526906	2,83 (0,91 – 8,82)	0,061
VDR	CC+TC vs. TT	rs1540339	1,73 (0,54 – 5,55)	0,34
CASR	GA+AA vs. GG	rs2202127	1,44 (0,34 – 6,09)	0,62

3.3.1 Результаты исследования уровня сывороточного остеопротегерина у пациентов в группах сравнения

С учетом того, что в ходе проведения исследования были получены данные о достоверной взаимосвязи однонуклеотидного полиморфизма гена ОПГ (rs3134057) и рецидива кальций-оксалатной формы МКБ, решено провести исследование по изучению уровня белка ОПГ, кодируемого одноименным геном,

в сыворотке крови. Анализ концентрации ОПГ в сыворотке крови проведен участникам всех групп, которые были включены в исследование.

В ходе анализа полученных результатов среди исследуемых групп не было выявлено достоверных различий по всем заявленным в исследовании клинично-демографическим параметрам (значение $p > 0,05$). При проведении ИФА всем участникам исследования удалось успешно определить уровни ОПГ. Статистический анализ показал, что в группе наблюдения №1 уровень ОПГ был достоверно выше, чем в контрольной группе (9,02 (4,63; 11,36) против 3,635 (0,9675; 9,295), $p = 0,012$). Разница в медиане показателей уровня ОПГ между группой наблюдения №1 и контрольной группой составила 148,1%. Между группой наблюдения №2 и контрольной группой статистически значимых отличий в уровне ОПГ не выявлено (4,71 (3,18; 10,41) против 3,635 (0,9675; 9,295), $p > 0,05$). При сравнении уровней ОПГ в группе наблюдения №1 и группе наблюдения №2 статистический анализ показал, что в группе наблюдения №1 уровень ОПГ был достоверно выше, чем в группе наблюдения №2 (9,02 (4,63; 11,36) против 4,71 (3,18; 10,41), $p = 0,29$). Разница в медиане показателей уровня ОПГ между группой наблюдения №1 и группой наблюдения №2 составила 91,5%. Результаты определения уровня сывороточного ОПГ представлены на рисунке 25.

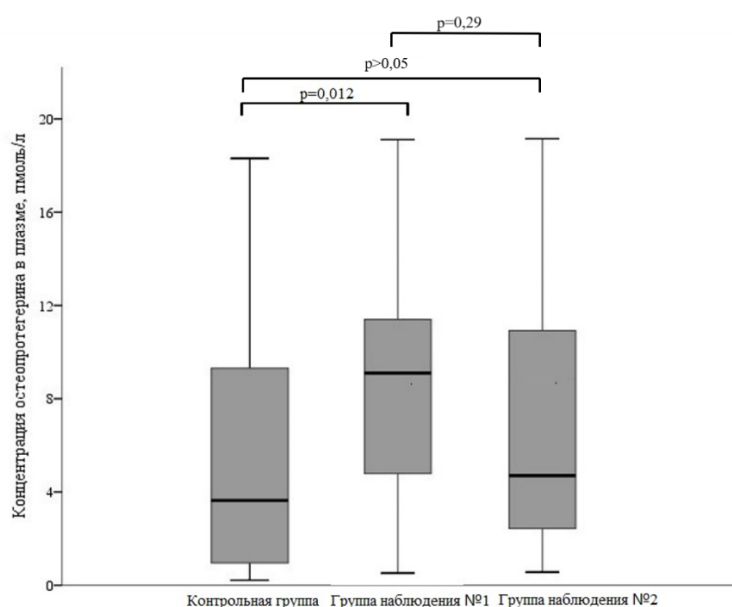


Рисунок 25. Сравнение концентрации сывороточного ОПГ в основных и контрольной группах.

В ходе исследования проведен ROC-анализ, целью которого была оценка полученных результатов уровней ОПГ в сыворотке крови. ROC-анализ выполнен во всех группах, принимающих участие в исследовании. Результаты представлены на рисунке 26. Площадь под ROC-кривой составила 0,657, что свидетельствует о низком дискриминирующем потенциале. Чувствительность ОПГ составила 78%, специфичность ОПГ была равна 52%. Порогового значения ОПГ, при котором проводился анализ составляло 2,7 пмоль/л.

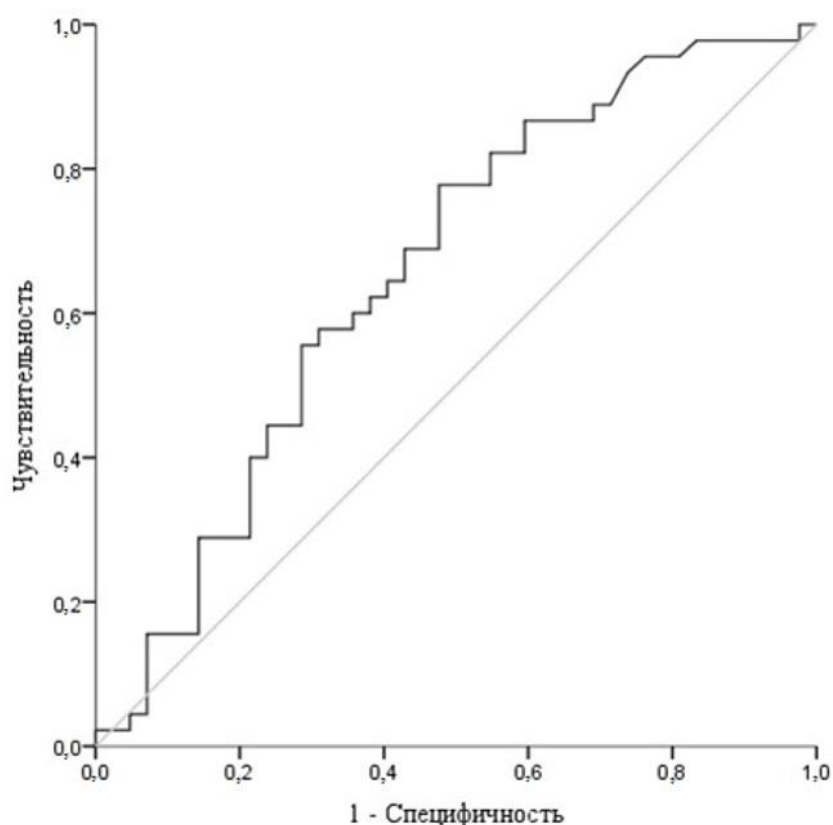


Рисунок 26. ROC-кривая для оценки уровня сывороточного ОПГ в группе наблюдения №1.

Далее все участники исследования были объединены с учетом имеющегося генотипа однонуклеотидного полиморфизма rs3134057 гена ОПГ. Группы сравнения были следующими: AA + AG против GG, а также AA против AG против

GG. При анализе взаимосвязи между уровнем ОПГ в сыворотке крови и генотипом AA + AG по сравнению с GG не было выявлено статистически значительной разницы ($p>0,05$). При сравнении групп с генотипами AA и AG, а также AA и GG также не получены достоверные результаты ($p>0,05$). Результаты представлены на рисунках 27 (А, В, С, D) и 28 (А, В, С, D).

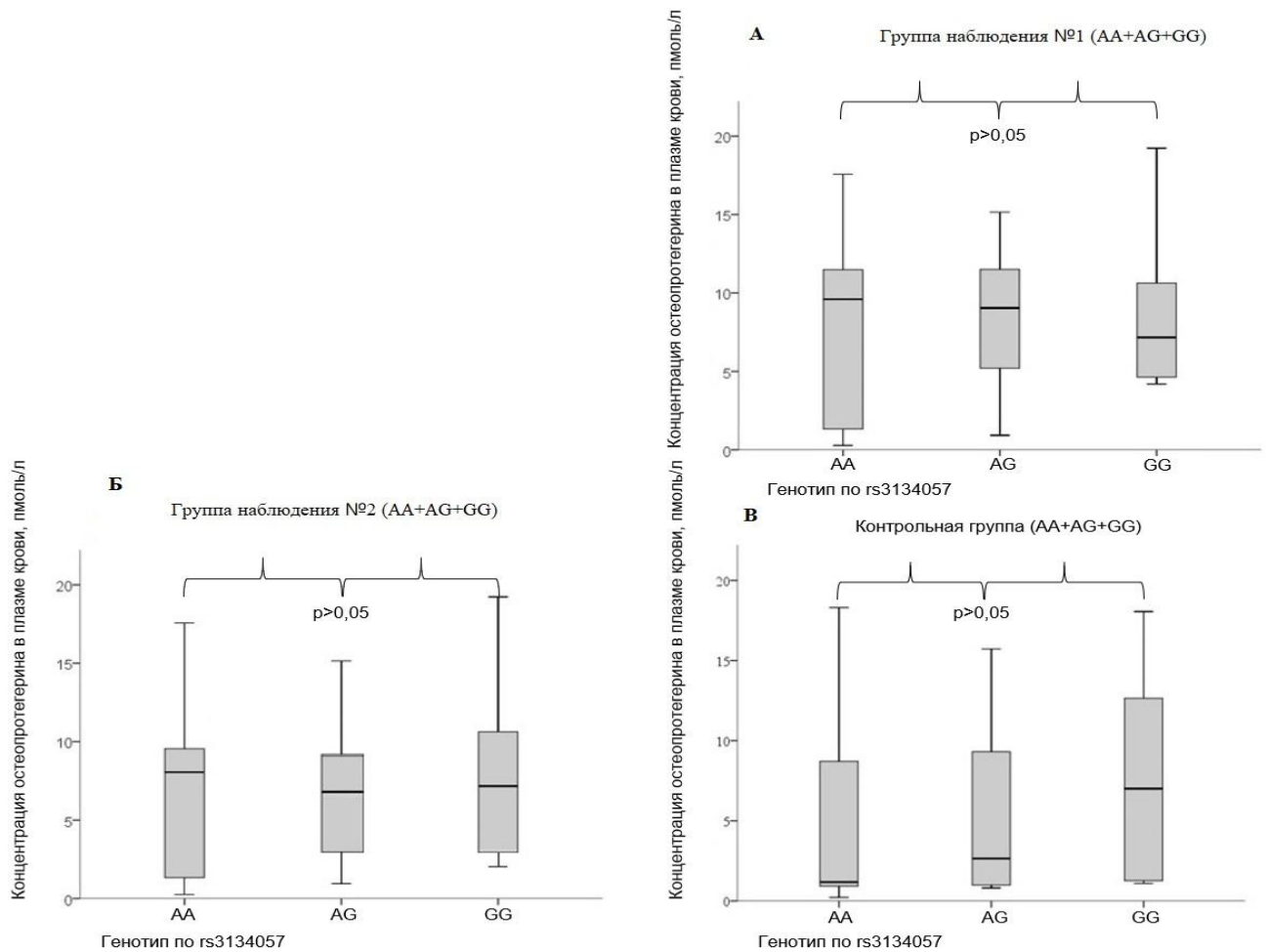


Рисунок 27. Зависимость уровня ОПГ от распределения по генотипу AA против AG против GG в группе наблюдения №1 (N=73)(А), в группе наблюдения №2 (N=28)(Б), в контрольной группе (N=51)(В).

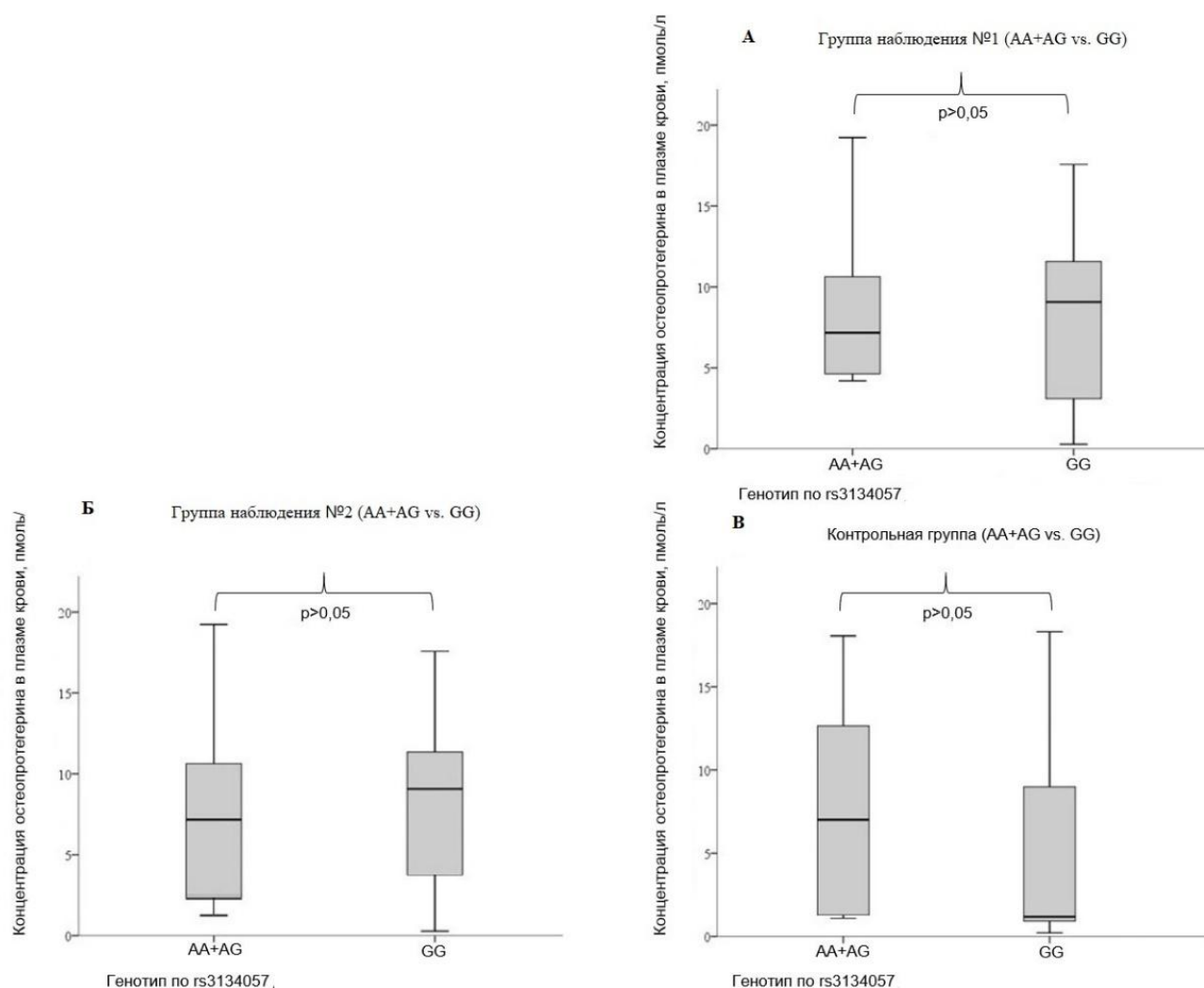


Рисунок 28. Зависимость уровня остеопротегерина от распределения по генотипу AA+AG против GG в группе наблюдения №1 (N=73)(А), в группе наблюдения №2 (N=28) (Б), в контрольной группе (N=51) (В).

3.3.2 Результаты исследования уровня сывороточного остеопротегерина у пациентов в группах сравнения в зависимости от факторов риска

В рамках исследования, в которое входили группы наблюдения №1, наблюдения №2 и контрольную группу, был осуществлён статистический анализ, направленный на выявление связи между уровнем сывороточного ОПГ и такими факторами, как пол, возраст и индекс массы тела. При анализе статистических показателей для уровня сывороточного остеопротегерина и пола, различия в

группах наблюдения №1 и №2 и контрольной группе являются недостоверные ($p > 0,05$). При анализе статистических показателей для уровня сывороточного остеопротегерина и возраста, различия в группах наблюдения №1 и №2 и контрольной группе являются также недостоверные ($p > 0,05$). При анализе статистических показателей для уровня сывороточного остеопротегерина и индекса массы тела, различия в группах наблюдения №1 и №2 и контрольной группе являются также недостоверные ($p > 0,05$).

3.4 Интегральная модель оценки течения рецидивирующего кальций-оксалатного уролитиаза и прогнозирования развития рецидива

Для уточнения вероятности появления рецидива кальций-оксалатного уролитиаза, а также анализа течения заболевания, была построена интегральная модель, базирующейся на результатах осуществленного исследования. Многофакторная логистическая регрессия стала способом определения независимых факторов прогноза рецидива кальций-оксалатной формы уролитиаза. В качестве независимых переменных были предложены: индекс массы тела, наличие гипертонической болезни, уровень остеопротегерина сыворотки крови, уровень ионизированного кальция сыворотки крови и сумма двух генотипов *OPG* rs3134057 (AG+GG против AA). Выбор данных показателей для интегральной модели был сделан, т.к. в ходе проведенного исследования они показали возможную перспективность. А наличие и отсутствие рецидива кальций-оксалатного уролитиаза введена в модель в качестве двоичной зависимой переменной.

На Рисунке 29 изображена созданная модель. Отношение шансов возможности развития рецидива заболевания для каждой из переменных аналогично линиям на рисунке. Значимость результатов исследования определена – $p < 0,05$.

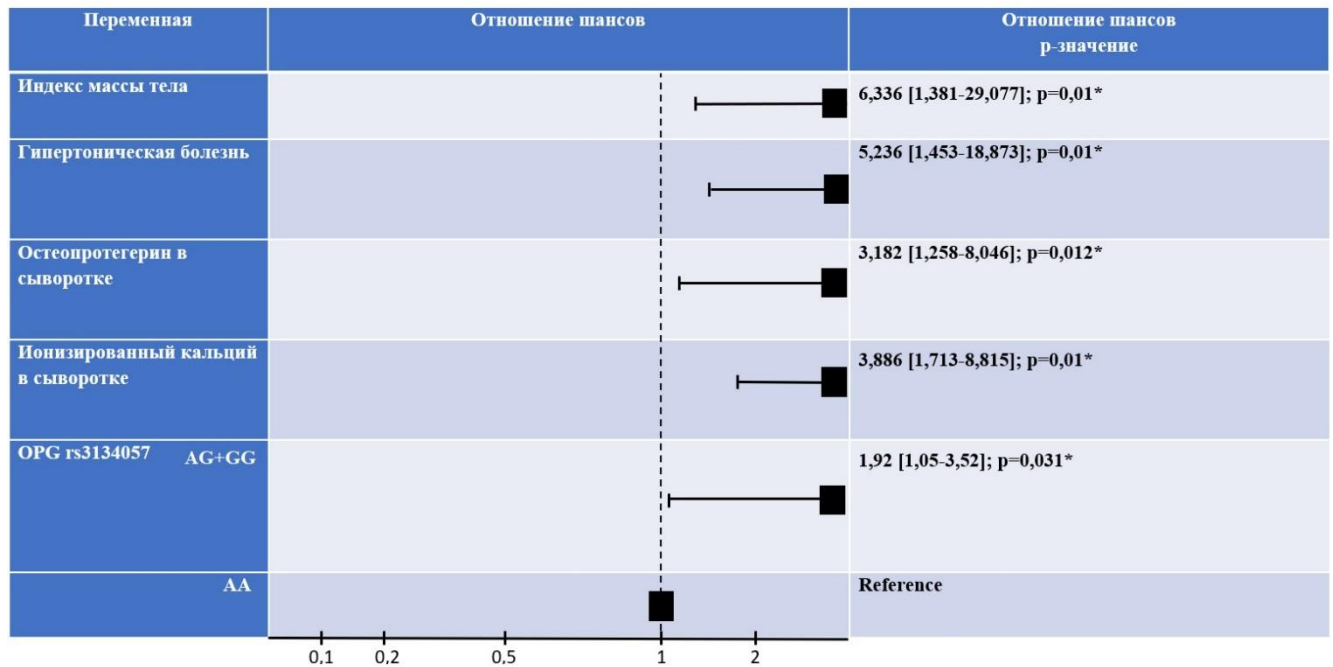


Рисунок 29. Модель мультиномиальной логистической регрессии для факторов, связанных с развитием рецидива кальций-оксалатного уролитиаза.

В ходе формирования модели было определено пять показателей, которые являются независимыми предикторами рецидива кальций-оксалатной формы МКБ.

1. Индекс массы тела > 30 кг/м² - ОШ составило 6,336 (95%ДИ: 1,381-29,077; $p = 0,01$).
2. Гипертоническая болезнь - ОШ составило 5,236 (95% ДИ: 1,453-18,873; $p=0,01$).
3. Уровень ионизированного кальция в сыворотке крови - ОШ составило 3,886 (95%ДИ: 1,713-8,815; $p=0,01$).
4. Уровень остеопротегерина в сыворотке крови - ОШ составило 3,182 (95%ДИ: 1,258-8,046; $p = 0,012$).
5. Для суммы двух генотипов *OPG* rs3134057: гетерозиготного генотипа (AG) и гомозиготного мутантного генотипа (GG) против гомозиготного дикого генотипа (AA) отношение шансов составило 1,92 (95%ДИ: 1,05-3,52; $p = 0,031$).

Подводя итог исследования и анализируя полученные результаты, а именно взаимосвязь изученных полиморфных вариантов генов, показателей сыворотки крови, концентрации сывороточного ОПГ с развитием рецидива кальций-оксалатного уролитиаза отмечено, что полиморфный вариант гена ОПГ (rs3134057), высокие уровни ОПГ, ионизированного кальция сыворотки крови, а также индекс массы тела и гипертоническая болезнь являются независимыми факторами развития рецидива кальций-оксалатной формы уролитиаза.

3.5 Наблюдение за пациентами

В ходе данного исследования наблюдалось трое пациентов, диагноз у которых был установлен на основании проведенного молекулярно-генетического, а также иммуноферментного анализа, что позволило незамедлительно начать лечение.

Пациент А.

Пациент А. 56 лет, с возраста 21 года наблюдается урологом поликлиники по месту жительства по поводу мочекаменной болезни. По данным химического анализ конкременты имеют кальций-оксалатный состав. Из анамнеза известно, что ранее отмечались неоднократные эпизоды самоотхождение конкрементов. Дважды проходил стационарное лечение по поводу почечной колики, конкремента мочеточника, при котором в связи с отсутствием положительной динамики выполнялись лазерные контактные уретеролитотрипсии. Пациент страдает сопутствующей патологией: ожирением II степени (ИМТ=35,1 кг/м²), гипертонической болезнью II стадии. Находился под динамическим наблюдением, когда был диагностирован очередной рецидив кальций-оксалатного уролитиаза, проявившийся развитием правосторонней почечной коликой. При проведении комплексного обследования впервые выполнено молекулярно-генетическое исследование, в ходе генотипирования диагностирован однонуклеотидный полиморфизм гена остеопротегерина (rs3134057, гомозиготный мутантный генотип GG). Также проведен ИФА сыворотки крови, выявлено повышение уровня

остеопротегерина до 9,6 пмоль/л. При инструментальном обследовании был выявлен конкремент правого мочеточника 6 мм в диаметре. Проведено оперативное лечение: контактная лазерная уретеролитотрипсия. Пациент выписан из стационара на амбулаторное лечение на 2-е сутки послеоперационного периода.

Это является доказательством наличия взаимосвязи однонуклеотидного полиморфизма гена ОПГ и развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза.

Пациент Б.

Пациент Б. 69 лет. Из анамнеза известно, что 9 лет назад был диагностирован эпизод левосторонней почечной колики, по поводу которого проводилась консервативная (литокINETическая) терапия с положительным эффектом: отмечено самоотхождение конкремента. Проведен химический анализ состава – кальций-оксалатный конкремент. В дальнейшем регулярно наблюдался урологом в поликлинике по месту жительства. Повторных эпизодов образования конкрементов выявлено не было. ИМТ – 24 кг/м², что соответствует нормальному показателю. В настоящий момент был обследован в клинике урологии в ходе проведения исследования. Впервые выполнено молекулярно-генетическое исследование, при котором данных за наличие однонуклеотидных полиморфизмов в генах кандидатов не получено. При ИФА остеопротегерина сыворотки крови его уровень составил 2,3 пмоль/л, что соответствует нормальному значению. При проведении УЗИ и МСКТ органов брюшной полости, забрюшинного пространства и малого таза не выявлено конкрементов в органах мочевыделительной системы.

У больного в анамнезе отмечен эпизод самостоятельного отхождения конкремента, который сопровождался почечной коликой. В дальнейшем при регулярном динамическом наблюдении данных за повторные эпизоды образования конкрементов не получено. Результаты обследования в ходе данного исследования свидетельствуют об отсутствии системных нарушений, способствующих рецидиву.

Пациент В.

Пациент В. 51 год. Проводится регулярное динамическое наблюдение в связи с рецидивирующей формой кальций-оксалатного уролитиаза. МКБ страдает на протяжении 20 лет. 7 лет назад стационарное лечение по поводу конкремента верхней трети левого мочеточника – выполнено 3 сеанса ДУВЛТ с положительным эффектом (фрагментация и самоотхождение конкремента). Пациент страдает ожирением I степени, ИМТ=31 кг/м². В настоящий момент в ходе исследования у пациента был выявлен конкремент лоханочно-мочеточникового сегмента слева до 9 мм в диаметре. Впервые было проведено молекулярно-генетическое исследование, обнаружен однонуклеотидный полиморфизм гена остеопротегерина (rs3134057, гетерозиготный генотип AG) и гомозиготный дикий генотип AA гена Клото (rs526906). Также у пациента диагностирована гиперкальциемия 1,66 ммоль/л. При ИФА сыворотки крови выявлено повышение уровня остеопротегерина до 10,86 пмоль/л. В дальнейшем пациенту выполнено хирургическое лечение в объеме контактной лазерной уретеролиптрипсии.

У пациента на момент исследования отсутствовала характерная клиническая картина миграции конкремента в мочеточник. Результаты молекулярно-генетического исследования, ИФА: выявление однонуклеотидного полиморфизма гена остеопротегерина, наличие гомозиготного дикого генотипа (AA) гена Клото, повышенного уровня остеопротегерина также подтверждают ассоциацию данных лабораторных показателей и развития рецидива МКБ.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ⁵

4.1 Обсуждение результатов генотипирования

Выполненное на основе выборки из российской популяции клиническое исследование направлено на поиск новых маркеров развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза.

Изученные однонуклеотидные полиморфизмы располагаются в интронных участках, что означает их нахождение в зонах генома, где наблюдается высокая степень связи аллелей с генами, к которым они принадлежат. Таким образом для данных однонуклеотидных полиморфизмов характерна ассоциация с уровнем экспрессии соответствующих генов.

Исследования показывают, что специфические однонуклеотидные изменения могут оказывать прямое влияние на метаболические процессы и отдельные аспекты метаболизма. Примером может являться активация нестандартного варианта аллеля rs851982 гена ESR1, которая усиливает функционирование регуляторных зон генов ESR1 и RMND1 в некоторых типах клеток, в том числе ER+ MCF-7, BT-474 и ERBre-80, что указывает на клетки молочной железы с разной реактивностью эстрогенных рецепторов. Использование метода хроматинной иммунопреципитации позволило обнаружить, что ген rs8519882 обогащается белком GATA3, в то время как его распространенность не показала отличий между клетками, содержащими этот SNP, и клетками с обычными аллелями [35]. Кроме того, обнаружено, что наличие SNP

⁵ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации, выполненные соискателем в соавторстве, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Савилов, А.В. Роль генетических факторов в развитии рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн, Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикан, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, Е.В. Афанасьевская, В.Н. Мамедов, А.С. Шурыгина, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2022. – Т. 10, N 3. – С. 54-64 (1,27 п.л. / авторский вклад – 0,64 п.л.); Савилов, А.В. Изменения концентрации остеопротегерина в сыворотке крови при рецидивирующем уролитиазе / А.В. Савилов, М. Джайн, А.С. Тивтикан, М.Е. Коцепуга, Д.М. Анохин, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2023. – Т. 11, N 3. – С. 77-86 (1,16 п.л. / авторский вклад – 0,87 п.л.).

rs851982 ассоциируется с увеличенной плотностью костей в области шейки бедра ($p = 0,012$) [53]. Однако наши наблюдения не выявили связи между rs851982 и предрасположенностью к повторному формированию камней в почках, что созвучно с данными российских исследователей [2].

Обнаружено, что наличие минорной формы аллеля rs1540339 в гене VDR (как в гетерозиготной, так и в гомозиготной форме: OR = 0,55; 95% ДИ: 0,35 – 0,88; $p = 0,01$ и OR = 0,404; 95% ДИ: $p = 0,005$ соответственно) уменьшает риск заболевания туберкулезом. При этом в клетках больных туберкулезом зафиксировано значительное снижение уровня мРНК VDR. Эти обстоятельства могут свидетельствовать о влиянии rs1540339 на уровень экспрессии гена VDR. Отметим, что VDR является центральным элементом в механизме иммунной защиты против инфекции, инициируя формирование фаголизосомального комплекса после связывания с активной формой витамина D [42]. Тем не менее, сведения о вкладе rs1540339 в развитие уролитиаза остаются противоречивыми, с учетом исследований, подтверждающих [9] и опровергающих [4] его роль. В рамках нашего анализа также не было выявлено связи rs1540339 в гене VDR с развитием рецидива кальций-оксалатного уролитиаза, что предполагает необходимость более глубокого изучения воздействия rs1540339.

На сегодняшний день отсутствуют данные *in vivo* и *in vitro* о вариациях в экспрессии гена CASR в случае встречаемости минорного аллеля rs2202127. Однако известно, что присутствие rs2202127 ассоциируется с увеличенным содержанием кальция в сыворотке крови [24], что может указывать на его участие в обмене кальция. Аполихин О. и соавторы выявили связь между рецидивирующим уролитиазом и полиморфизмом rs2202127 в гене CASR [2], но последующие исследования, включая наше, не подтвердили эти результаты [9]. Так, данные о воздействии rs2202127 на рецидивирующий уролитиаз остаются спорными, что подчеркивает необходимость проведения более масштабных исследований с выделением дополнительных подгрупп пациентов.

Из предшествующих исследований известно, что наличие полиморфизма в гене KL вызывает повышение его экспрессии [26]. Повышенная экспрессия белка Клото усиливает выведение фосфора почками и снижает его абсорбцию в кишечнике, что может привести к гиперкальциурии. В нашем эксперименте была обнаружена значимая связь между однонуклеотидным полиморфизмом rs526906 в гене KL и риском рецидива уролитиаза [4, 10].

В настоящее время нет данных *in vivo* и *in vitro* об изменениях в экспрессии гена TNFRS11B при обнаружении SNP rs3134057; однако было выявлено снижение минеральной плотности костной ткани в области дистального отдела лучевой кости, связанное с этим полиморфизмом [49]. В нашем исследовании установлена ассоциация полиморфизма TNFRS11B с развитием рецидива МКБ. Тогда как в работе Аполихина О. и коллег такая связь не была обнаружена [2], что может объясняться различиями в критериях отбора: наш анализ охватывал только пациентов с кальций-оксалатной формой уролитиаза и разнообразными течениями болезни.

4.2 Обсуждение результатов определения сывороточного остеопротегерина

ОПГ является ключевым регулятором метаболизма костной ткани. Этот белок способствует снижению экспрессии остеокластов, что, в свою очередь, приводит к уменьшению костной резорбции [49]. Исследование, проведенное Висау N. и коллегами в 1998 году, показало, что трансгенные мыши без ОПГ демонстрируют выраженные признаки остеопороза, тогда как мыши с повышенной экспрессией ОПГ имеют остеопетротический фенотип. Кроме того, ОПГ играет важную роль в снижении метастазирования различных опухолей в костную ткань, что связано с уменьшением ее резорбции. ОПГ также предотвращает потерю костной массы при адьювантном артрите, не оказывая воздействия на воспалительные процессы [80].

Согласно мнению ряда ученых, остеопротегерин (ОПГ) может служить биомаркером для оценки снижения минеральной плотности костной ткани. В частности, исследование, проведенное Grigorie D. и соавторами (2002), установило связь между повышенными уровнями ОПГ и возрастом как у пациентов с остеопорозом, так и у лиц, не страдающих этим заболеванием. Это наблюдение может свидетельствовать о том, что увеличение концентрации сывороточного остеопротегерина выполняет защитную функцию при снижении минеральной плотности костной ткани различной этиологии [38].

В исследовании Langdahl B.L. и коллег (от 2002 года) была выдвинута гипотеза о том, что ОПГ может выступать в роли медиатора, способствующего увеличенной резорбции костной ткани, которая наблюдается с возрастом или после менопаузы. Результаты этого исследования показали наличие корреляции между сывороточными уровнями ОПГ и уровнями костно-специфической щелочной фосфатазы, а также с экскрецией пиридинолина и дезоксипиридинолина с мочой [83]. Эти данные указывают на то, что уровень ОПГ в сыворотке отражает метаболические процессы в костной ткани, а не служит показателем степени ингибирования ее резорбции.

Первое исследование, в котором была обозначена связь между ОПГ и МКБ, принадлежит Mansour A. и др. (2018). В исследовании было продемонстрировано, что у пациентов с нефролитиазом, имеющих пониженную минеральную плотность костной ткани, уровень сывороточного (ОПГ) значительно выше, чем у пациентов с нормальной плотностью костей. Это может указывать на компенсаторный механизм, направленный на защиту от факторов, способствующих повреждению костей, возможно, в рамках воспалительного ответа, связанного с нефролитиазом [20].

В дальнейшем, в исследовании Dayarule S. и соавторов (от 2021 года) было проанализировано изменение уровня сывороточного ОПГ при уролитиазе. Полученные результаты продемонстрировали статистически значимое увеличение

уровня сывороточного ОПГ у пациентов с уролитиазом, что согласуется с выводами нашего исследования. Авторы предположили, что причиной повышения уровня сывороточного ОПГ может быть окислительный стресс, способствующий образованию и росту кристаллов в уротелии [88].

В рамках нашего исследования не была обнаружена корреляция между уровнем остеопротегерина и генотипом по маркеру rs3134057. Это может быть связано с различными факторами, включая увеличение уровня ОПГ как ответ на воспалительный процесс, наличие окислительного стресса и возрастное снижение минеральной плотности костной ткани, что учитывается в представленных данных выборки. Тем не менее, имеются убедительные доказательства того, что однонуклеотидный полиморфизм в гене TNFRSF11B (rs3134057) является установленным фактором, способствующим снижению минеральной плотности костной ткани, что, в свою очередь, может быть связано с гиперкальциемией, увеличением концентрации солей в моче и высоким риском развития или рецидива уролитиаза, а также с повышением уровня ОПГ, выступающего в качестве медиатора снижения минеральной плотности костной ткани [58].

Данное исследование подтвердило, что повышенный уровень ОПГ в сыворотке крови у пациентов с рецидивирующей формой мочекаменной болезни может свидетельствовать о развитии рецидива данного заболевания. Проведение дополнительных исследований на более крупных выборках позволит окончательно определить значимость ОПГ в качестве маркера рецидива мочекаменной болезни, включая случаи с генетически детерминированными формами данного заболевания.

4.3 Прогностические возможности уровня сывороточного остеопротегерина

Согласно многочисленным исследованиям, остеопороз, являющийся широко распространенным заболеванием среди населения и характеризующийся

снижением минеральной плотности костной ткани, приводит к значительной и устойчивой гиперкальциурии. Гиперкальциурия, в свою очередь, служит триггером для манифестации и рецидива мочекаменной болезни. В настоящее время активно осуществляется поиск новых и перспективных биомаркеров, связанных с уролитиазом. ОПГ является одним из наиболее изученных звеньев обмена кальция в организме.

Данные проведенного в этой работе исследования показывают, что у пациентов с рецидивом кальций-оксалатного уротиаза рецидивирующего течения уровень ОПГ был значимо выше по сравнению с группой контроля и группой наблюдения №2. Также на основании ROC-анализа подтверждена возможность использовать повышенный уровень ОПГ для диагностики рецидива МКБ.

В настоящий момент возможность выполнения иммуноферментного анализа существует не во всех медицинских учреждениях и определяется зачастую удаленностью от региональных медицинских центров. Несмотря на данный факт, определение уровня ОПГ является крайне необходимым исследованием для выбора оптимальной тактики терапии при МКБ.

4.4 Ограничения и перспективы использования результатов

Выполненное исследование обладает некоторыми ограничениями. Прежде всего, результаты работы ограничиваются объемом выборки. Также, у пациентов было проведено ограниченное количество лабораторных исследований. В частности, молекулярно-генетическое исследование проведено не для всех возможных генов. В дальнейшем необходимо провести подобное исследование для гена Клаудин-14 (CLDN14), гена кальций релиз-активированного протеина кальциевых каналов 1 (ORAI1), гена гамма-диацилглицеролкиназы (DGKH), гена аквапорина 1 (AQP1), гена уромодулина (UMOD), гена остеопонтина (OPN) и гена урокиназного активатора плазминогена PLAU. При определении мутации в данных генах может возникать гиперкальциурия, нефрокальциноз, рецидивирующий

уролитиаз. Также в дальнейших исследованиях необходимо изучить уровень белка Клото, причем особый интерес представляют пациенты с диагностированным однонуклеотидным полиморфизмом данного гена.

В рамках настоящего исследования были выявлены ключевые аспекты заслуживающие внимания при анализе рисков развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза. Проведенный анализ обзора литературы по данной тематике указывает на уникальность исследования в Российской Федерации. Впервые производилось изучение связи между однонуклеотидными полиморфизмами генов, концентрацией сывороточного остеопротегерина и лабораторными показателями у пациентов с рецидивирующей кальций-оксалатной формой МКБ. Результаты научной работы могут стать фундаментом для дальнейшего изучения остеопротегерина как перспективного маркера рецидива кальций-оксалатного уролитиаза и внедрения новых методик лечения. Выявление факторов риска развития рецидива МКБ занимает первостепенное значение для ранней диагностики и незамедлительной терапии заболевания, что потенциально уменьшает длительность лечения и осложнения, а также смягчает нагрузки на здравоохранение в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам работы были сформулированы следующие **выводы**:

1) У пациентов с кальций-оксалатным уролитиазом рецидивирующего течения выявлена ассоциация с наличием однонуклеотидного полиморфизма гена TNFRS11B (rs3134057), AG+GG vs. AA, ОШ (95% ДИ)=1,92 (1,05 – 3,52), $p=0,031$ и однонуклеотидного полиморфизма гена KL (rs526906), AA+AG vs. GG, ОШ (95% ДИ)=3,17 (1,26 – 7,96), $p=0,013$. Аллельные варианты генов: TNFRS11B (rs3134057) и KL (rs526906) оказывают независимое влияние на риск развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза.

2) Независимыми предикторами развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза являются: наличие гетерозиготного (AG) и гомозиготного мутантного генотипов (GG) полиморфного варианта rs3134057 гена остеопротегерина, повышенные уровни остеопротегерина и ионизированного кальция сыворотки крови, индекс массы тела > 30 кг/м² и гипертоническая болезнь.

3) Носительство варианта гена TNFRS11B (rs3134057, сумма гетерозиготного и гомозиготного мутантного генотипов), ассоциированного с рецидивом кальций-оксалатного уролитиаза, не связано с концентрацией остеопротегерина в сыворотке крови.

4) При развитии рецидива кальций-оксалатного уролитиаза отмечается достоверное повышение уровня сывороточного остеопротегерина (+91,5%).

5) При концентрации сывороточного остеопротегерина выше 2,7 пмоль/л чувствительность и специфичность в отношении развития рецидива кальций-оксалатного уролитиаза составляет 78% и 52%, соответственно.

По результатам работы были предложены следующие **практические рекомендации**:

1) Для ранней диагностики рецидивирующего кальций-оксалатного уролитиаза рекомендуется проведения молекулярно-генетической диагностики для выявления однонуклеотидных полиморфизмов гена остеопротегерина (rs3134057) и гена Клота (rs526906).

2) Для ранней диагностики рецидива кальций-оксалатного уролитиаза рекомендуется определение уровня сывороточного остеопротегерина.

3) При обнаружении у пациента с кальций-оксалатным уролитиазом гетерозиготного (AG) и гомозиготного мутантного генотипов (GG) полиморфного варианта rs3134057 гена остеопротегерина, повышенного уровня остеопротегерина сыворотки крови, повышенного уровня ионизированного кальция сыворотки крови, индекса массы тела > 30 кг/м², а также гипертонической болезни, необходимо проведение активного динамического наблюдения урологом по месту жительства в связи с высоким риском развития рецидива заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат

ГБ – гипертоническая болезнь

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза

ГБУЗ «ГКБ № 31 им. Академика Г.М. Савельевой ДЗМ» – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 имени Академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы»

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

ИРК - индивидуальная регистрационная карта

ИФА - иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

ЛПВП - Липопротеины высокой плотности

МКБ – мочекаменная болезнь

МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова - Медицинский научно-образовательный институт Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

НАДФ -никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НАДФН-оксидазы - никотинамидадениндинуклеотидфосфоксидаза

НИИ – научно-исследовательский институт

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РАН – Российская Академия Наук

РФ – Российская Федерация

США – Соединенные Штаты Америки

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФКУ «ЦВКГ имени П.В. Мандрыка» Минобороны РФ – федеральное казенное учреждения «Центральный военный клинический госпиталь имени П.В. Мандрыка» Министерства обороны РФ

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ЭКГ – электрокардиография

ABCC6 - ATP-binding cassette sub-family C member 6

ADAM10 - A Disintegrin And Metalloproteinase domain 10

ADAM17 - A Disintegrin And Metalloproteinase domain 17

AGE - Advanced glycation end-products

AQP1 - Aquaporin 1

ASC-J9 – Dimethylcurcumin

BNIP3 - BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3

CASR - Calcium-sensing receptor

CD 44 - Cell Receptor 44

CSF-1 - The colony stimulating factor 1

DGKH - Diacylglycerol kinase eta

ESR1 - Estrogen receptor isoform 1

FGF23 - Fibroblast growth factor 23

FokI - Flavobacterium okeanokoites

GLA - Gamma-carboxyglutamic Acid

Gwas - Genome-wide association study

HIF-1 α - Hypoxia-inducible factor 1-alpha

IBM - International Business Machines

KL - Klotho protein

MiR-185-5p – microRNA 185-5p

NOX2 - NADPH oxidase 2

OPG – Osteoprotegerin

OPN - Osteopontin

ORAL1 - Calcium release-activated calcium channel protein 1

PLAU - Urokinase-type plasminogen activator

RANK - Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B

RANKL - Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand

RMND1 - required for meiotic nuclear division 1 homolog

ROC – receiver operating characteristic

SLC34A1 - Solute carrier family 34 member 1

SNP - Single-nucleotide polymorphism

SPP1 - Secreted Phosphoprotein 1

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

TNFRSF11B - Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11B

TRPV5 - Transient receptor potential cation channel subfamily V member 5

UMOD - uromodulin precursor

VD3 - Vitamin D3

VDR - Vitamin D receptor

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Генетические факторы риска нерезидивного уролитиаза в российской популяции / О.И. Аполихин, А.В. Сивков, О.В. Константинова [и др.] // Урология. – 2016. – N 4. – С. 20–23.
2. Генетические факторы риска рецидивного уролитиаза / О.И. Аполихин, О.В. Константинова, А.В. Сивков [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2016. – N 3. – С. 127–131.
3. Заболеваемость мочекаменной болезнью в Российской Федерации с 2005 по 2020 гг / А.Д. Каприн, О.И. Аполихин, А.В. Сивков [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, N 2. – С. 10–17.
4. Значение молекулярно-генетических методов при поиске факторов риска множественных камней почек у больных уролитиазом в российской популяции / О.В. Константинова, О.И. Аполихин, А.В. Сивков [и др.] // Урологические ведомости. – 2017. – Т. 7, Прил. – С. 55–56.
5. Изменения концентрации остеопротегерина в сыворотке крови при рецидивирующем уролитиазе / А.В. Савилов, М. Джайн., Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикян, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, С.П. Шершнев, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2023. – Т. 11, N 3. – С. 77-86.
6. Кальций-чувствительный рецептор, α -клото и FGF21 в развитии нефролитиаза / И.И. Голодников, З.Ш. Павлова, А.А. Камалов, А.В. Савилов // Технологии живых систем. – 2021. – Т. 18, N 1. – С. 32–40.
7. Мочекаменная болезнь: клинические рекомендации : утв. в 2020 г. : пересм. в 2022 г. / Российское общество урологов. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/7_1 (дата обращения: 22.05.2023).
8. Наследственный фактор метафилактики мочекаменной болезни: современное состояние вопроса / А.С. Тивтикян, А.В. Савилов, Д.А. Охоботов [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, N 1. – С. 76–84.

9. Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов мочекаменной болезни в российской популяции / О.И. Аполихин, А.В. Сивков, О.В. Константинова [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2013. – N 3. – С. 56–60.
10. Ранняя диагностика риска развития кальций-оксалатной формы мочекаменной болезни / О.И. Аполихин, А.В. Сивков, О.В. Константинова [и др.] // Урология. – 2017. – N 3. – С. 5–9.
11. Роль генетических факторов в развитии рецидивирующего уролитиаза / А.В. Савилов, М. Джайн, Д.М. Анохин, М.Е. Коцепуга, А.С. Тивтикян, Л.М. Самоходская, Д.А. Охоботов, Е.В. Афанасьевская, В.Н. Мамедов, А.С. Шурыгина, С.П. Шершневу, А.А. Камалов // Вестник урологии. – 2022. – Т. 10, N 3. – С. 54-64.
12. A polymorphism of the ORAI1 gene is associated with the risk and recurrence of calcium nephrolithiasis / Y.H. Chou, S.H. Juo, Y.C. Chiu [et al.] // J. Urol. – 2011. – Vol. 185, N 5. – P. 1742–1746.
13. A Twin Study of Genetic Influences on Nephrolithiasis in Women and Men / D.S. Goldfarb, A.R. Avery, L. Beara-Lasic [et al.] // Kidney Int. Rep. – 2018. – Vol. 4, N 4. – P. 535–540.
14. Activity, energy intake, obesity, and the risk of incident kidney stones in postmenopausal women: a report from the Women's Health Initiative / M.D. Sorensen, T. Chi, N.M. Shara [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2014. – Vol. 25, N 2. – P. 362–369.
15. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus / K. Nowotny, T. Jung, A. Höhn [et al.] // Biomolecules. – 2015. – Vol. 5, N 1. – P. 194–222.
16. Alelign, T. Kidney Stone Disease: An Update on Current Concepts / T. Alelign, B. Petros // Adv. Urol. – 2018. – Vol. 2018. – P. 3068365.
17. Ansari, H. Different approaches to detect "Nanobacteria" in patients with kidney stones: an infectious cause or a subset of life? / H. Ansari, A. Akhavan Sepahi, M. Akhavan Sepahi // Urol. J. – 2017. – Vol. 14, N 5. – P. 5001–5007.

18. Association between body mass index, lipid profiles, and types of urinary stones / M. Inci, A. Demirtas, B. Sarli [et al.] // *Ren. Fail.* – 2012. – Vol. 34, N 9. – P. 1140–1143.
19. Association between calcium-sensing receptor gene polymorphisms and recurrent calcium kidney stone disease: a comprehensive gene analysis / N. Shakhssalim, B. Kazemi, A. Basiri [et al.] // *Scand. J. Urol. Nephrol.* – 2010. – Vol. 44, N 6. – P. 406–412.
20. Association between metabolic syndrome and nephrolithiasis and OPG in patients with nephrolithiasis / A. Mansour, M. Aboerad, M. Qorbani [et al.] // *BMC Nephrol.* – 2018. – Vol. 19, N 1. – P. 172.
21. Association between metabolic syndrome and nephrolithiasis in an inpatient population in southern Italy: role of gender, hypertension and abdominal obesity / D. Rendina, G. Mossetti, G. De Filippo [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2009. – Vol. 24, N 3. – P. 900–906.
22. Association between OPN genetic variations and nephrolithiasis risk / X. Xiao, Z. Dong, X. Ye [et al.] // *Biomed. Rep.* – 2016. – Vol. 5, N 3. – P. 321–326.
23. Association between the T-593A and C6982T polymorphisms of the osteopontin gene and risk of developing nephrolithiasis / B. Gogebakan, Y.Z. Igci, A. Arslan [et al.] // *Arch. Med. Res.* – 2010. – Vol. 41, N 6. – P. 442–448.
24. Association of common variants in the calcium-sensing receptor gene with serum calcium levels in East Asians / N. Vinayagamoorthy, S.H. Yim, S.H. Jung [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2015. – Vol. 60, N 8. – P. 407–412.
25. Association of ESR1 polymorphism rs2234693 and rs9340799 with postmenopausal osteoporosis in a Chinese population / J. Shu, J. Li, Y. Fu [et al.] // *BMC Musculoskelet. Disord.* – 2020. – Vol. 21, N 1. – P. 346.
26. Association of polymorphisms in the klotho gene with severity of non-diabetic ESRD in African Americans / M.A. Bostrom, P.J. Hicks, L. Lu [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2010. – Vol. 25, N 10. – P. 3348–3355.

27. Association of VDR and OPG gene polymorphism with osteoporosis risk in Chinese postmenopausal women / F. Wu, D. Zhou, G. Shen [et al.] // *Climacteric*. – 2019. – Vol. 22, N 2. – P. 208–212.
28. Association of vitamin D receptor polymorphisms and nephrolithiasis: A meta-analysis / T.B. González-Castro, R. Blachman-Braun, Y. Hernández-Díaz [et al.] // *Gene*. – 2019. – Vol. 711. – P. 143936.
29. Association study of klotho gene polymorphism with calcium oxalate stones in the Uyghur population of Xinjian, China / A. Ali, H. Tursun, A. Talat [et al.] // *Urol. J.* – 2017. – Vol. 14, N 1. – P. 2939–2943.
30. Associations of the estrogen receptors 1 and 2 gene polymorphisms with the metabolic syndrome in women / A.C. Goulart, R.Y. Zee, A. Pradhan, K.M. Rexrode // *Metab. Syndr. Relat. Disord.* – 2009. – Vol. 7, N 2. – P. 111–117.
31. Ba, J. Calcium-sensing receptor regulation of PTH-inhibitable proximal tubule phosphate transport / J. Ba, D. Brown, P.A. Friedman // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 6. – P. F1233–1243.
32. Bird, V.Y. How do stones form? Is unification of theories on stone formation possible? / V.Y. Bird, S.R. Khan // *Arch. Esp. Urol.* – 2017. – Vol. 70, N 1. – P. 12–27.
33. Blood ionized calcium is associated with clustered polymorphisms in the carboxyl-terminal tail of the calcium-sensing receptor / A. Scillitani, V. Guarnieri, S. De Geronimo [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89, N 11. – P. 5634–5638.
34. Boscutti, G. Metabolic diseases and the kidney: a complex interplay / G. Boscutti, D. Montanaro // *G. Ital. Nefrol.* – 2016. – Vol. 33, S68. – P. gin/33.S68.1.
35. Breast cancer risk variants at 6q25 display different phenotype associations and regulate ESR1, RMND1 and CCDC170 / A.M. Dunning, K. Michailidou, K.B. Kuchenbaecker [et al.] // *Nat. Genet.* 2016. – Vol. 48, N 4. – P. 374–386.
36. Calcium oxalate stone fragment and crystal phagocytosis by human macrophages / S. Kusmartsev, P.R. Dominguez-Gutierrez, B.K. Canales [et al.] // *J. Urol.* – 2016. – Vol. 195, N 4, Pt 1. – P. 1143–1151.

37. Chaudhary, A. In vitro Evaluation of Terminalia arjuna on Calcium Phosphate and Calcium Oxalate Crystallization / A. Chaudhary, S.K. Singla, C. Tandon // Indian J. Pharm. Sci. – 2010. – Vol. 72, N 3. – P. 340–345.
38. Circulating osteoprotegerin and leptin levels in postmenopausal women with and without osteoporosis / D. Grigorie, E. Neacșu, M. Marinescu, O. Popa // Rom. J. Intern. Med. – 2003. – Vol. 41, N 4. – P. 409–415.
39. Common and rare variants associated with kidney stones and biochemical traits / A. Oddsson, P. Sulem, H. Helgason [et al.] // Nat. Commun. – 2015. – Vol. 6. – P. 7975.
40. Current insights into the mechanisms and management of infection stones / E.J. Espinosa-Ortiz, B.H. Eisner, D. Lange, R. Gerlach // Nat. Rev. Urol. – 2019. – Vol. 16, N 1. – P. 35–53.
41. Daudon, M. Randall's plaque as the origin of calcium oxalate kidney stones / M. Daudon, D. Bazin, E. Letavernier // Urolithiasis. – 2015. – Vol. 43, Suppl. 1. – P. 5–11.
42. Differential distribution in vitamin D receptor gene variants and expression profile in Northeast Brazil influences upon active pulmonary tuberculosis / M.E. de Albuquerque Borborema, J.J. de Souza Pereira, A. Dos Santos Peixoto [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2020. – Vol. 47, N 9. – P. 7317–7322.
43. Domingos, F. Metabolic syndrome: a multifaceted risk factor for kidney stones / F. Domingos, A. Serra // Scand. J. Urol. – 2014. – Vol. 48, N 5. – P. 414–419.
44. Dyslipidemia and kidney stone risk / F.C. Torricelli, S.K. De, S. Gebreselassie [et al.] // J. Urol. – 2014. – Vol. 191, N 3. – P. 667–672.
45. Epidemiological Trends of Urolithiasis at the Global, Regional, and National Levels: A Population-Based Study / X. Qian, J. Wan, J. Xu [et al.] // Int. J. Clin. Pract. – 2022. – Vol. 2022. – P. 6807203.
46. Estrogen receptor α and β gene polymorphism in relation to bone mineral density and lipid profile in Northeast Indian women / R. Saoji, M. Desai, R.S. Das [et al.] // Gene. – 2019. – Vol. 710. – P. 202–209.

47. Evaluation of ERalpha and VDR gene polymorphisms in relation to bone mineral density in Turkish postmenopausal women / O. Kurt, H. Yilmaz-Aydogan, M. Uyar [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, N 6. – P. 6723–6730.
48. Evidence for a distinct gut microbiome in kidney stone formers compared to non-stone formers / J.M. Stern, S. Moazami, Y. Qiu [et al.] // *Urolithiasis.* – 2016. – Vol. 44, N 5. – P. 399–407.
49. Feige, U. Osteoprotegerin / U. Feige // *Ann. Rheum. Dis.* – 2001. – Vol. 60, N 3. – P. 81–84.
50. Gamba, G. Thick ascending limb: the Na(+):K (+):2Cl (-) co-transporter, NKCC2, and the calcium-sensing receptor, CaSR / G. Gamba, P.A. Friedman // *Pflugers Arch.* – 2009. – Vol. 458, N 1. – P. 61–76.
51. Genetic polymorphisms as prognostic factors for recurrent kidney stones: A systematic review and meta-analysis / W. Atmoko, P.A. Raharja, P. Birowo [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16, N 5. – P. e0251235.
52. Identification of gene biomarkers in patients with postmenopausal osteoporosis / C. Yang, J. Ren, B. Li [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2019. – Vol. 19, N 2. – P. 1065–1073.
53. IL21R and PTH may underlie variation of femoral neck bone mineral density as revealed by a genome-wide association study / Y. Guo, L.S. Zhang, T.L. Yang [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – Vol. 25, N 5. – P. 1042–1048.
54. Immunotherapy for stone disease / P.R. Dominguez-Gutierrez, E.P. Kwenda, S.R. Khan, B.K. Canales // *Curr. Opin. Urol.* – 2020. – Vol. 30, N 2. – P. 183–189.
55. In addition to insulin resistance and obesity, brachial-ankle pulse wave velocity is strongly associated with metabolic syndrome in Chinese--a population-based study (Taichung Community Health Study, TCHS) / W.Y. Lin, M.M. Lai, C.I. Li [et al.] // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2009. – Vol. 16, N 2. – P. 105–112.
56. Increased 10-year cardiovascular disease and mortality risk scores in asymptomatic patients with calcium oxalate urolithiasis / H. Aydin, F. Yencilek, I.B. Erihan [et al.] // *Urol. Res.* – 2011. – Vol. 39, N 6. – P. 451–458.

57. Influence of calcium-sensing receptor gene on urinary calcium excretion in stone-forming patients / G. Vezzoli, A. Tanini, L. Ferrucci [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. – Vol. 13, N 10. – P. 2517–2523.
58. Influence of polymorphisms in the RANKL/RANK/OPG signaling pathway on volumetric bone mineral density and bone geometry at the forearm in men / D. Marangella, K.L. Holliday, S.R. Pye [et al.] // Calcif. Tissue Int. – 2011. – Vol. 89, N 6. – P. 446–455.
59. Jia, M. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease / M. Jia, K. Dahlman-Wright, J.A. Gustafsson // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. – 2015. – Vol. 29, N 4. – P. 557–568.
60. Khan, S.R. Randall's plaque and calcium oxalate stone formation: role for immunity and inflammation / S.R. Khan, B.K. Canales, P.R. Dominguez-Gutierrez // Nat. Rev. Nephrol. – 2021. – Vol. 17, N 6. – P. 417–433.
61. Kidney stone disease and risk factors for coronary heart disease / S. Hamano, H. Nakatsu, N. Suzuki [et al.] // Int. J. Urol. – 2005. – Vol. 12, N 10. – P. 859–863.
62. Kidney stones and subclinical atherosclerosis in young adults: the CARDIA study / A.P. Reiner, A. Kahn, B.H. Eisner [et al.] // J. Urol. – 2011. – Vol. 185, N 3. – P. 920–925.
63. Kidney stones associate with increased risk for myocardial infarction / A.D. Rule, V.L. Roger, L.J. Melton [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2010. – Vol. 21, N 10. – P. 1641–1644.
64. KLOTHO gene polymorphism of G395A is associated with kidney stones / D. Telci, A.U. Dogan, E. Ozbek [et al.] // Am. J. Nephrol. – 2011. – Vol. 33, N 4. – P. 337–343.
65. Klotho gene polymorphism of rs3752472 is associated with the risk of urinary calculi in the population of Han nationality in Eastern China / C. Xu, R.J. Song, J. Yang [et al.] // Gene. – 2013. – Vol. 526, N 2. – P. 494–497.
66. Letavernier, E. Vitamin D, Hypercalciuria and Kidney Stones / E. Letavernier, M. Daudon // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, N 3. – P. 366.

67. Loss of the androgen receptor suppresses intrarenal calcium oxalate crystals deposition via altering macrophage recruitment/M2 polarization with change of the miR-185-5p/CSF-1 signals / W. Zhu, Z. Zhao, F. Chou [et al.] // *Cell. Death. Dis.* – 2019. – Vol. 10, N 4. – P. 275.
68. Low urine pH: a novel feature of the metabolic syndrome / N.M. Maalouf, M.A. Cameron, O.W. Moe [et al.] // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2007. – Vol. 2, N 5. – P. 883–888.
69. M1/M2-macrophage phenotypes regulate renal calcium oxalate crystal development / K. Taguchi, A. Okada, S. Hamamoto [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 35167.
70. Marangella, M. Genetic approach to nephrolithiasis / M. Marangella, C. Marcuccio, C. Vitale // *G. Ital. Nefrol.* – 2015. – Vol. 32, S64. – P. gin/32.S64.7.
71. Metabolic assessment of recurrent and first renal calcium oxalate stone formers / B. Çakıroğlu, E. Eyyupoğlu, A.I. Hazar [et al.] // *Arch. Ital. Urol. Androl.* – 2016. – Vol. 88, N 2. – P. 101–105.
72. Metabolic Syndrome and Kidney Stone Disease: A Systematic Review of Literature / Y. Wong, P. Cook, P. Roderick, B.K. Somani // *J. Endourol.* – 2016. – Vol. 30, N 3. – P. 246–253.
73. Metabolic syndrome and urinary stone composition: what factors matter most? / A.O. Kadlec, K. Greco, Z.C. Fridirici [et al.] // *Urology.* – 2012. – Vol. 80, N 4. – P. 805–810.
74. Miyazawa, K. Gene expression and its role on urolithiasis / K. Miyazawa, K. Suzuki // *Clin. Calcium.* – 2011. – Vol. 21, N 10. – P. 1473–1479.
75. Monico, C.G. Genetic determinants of urolithiasis / C.G. Monico, D.S. Milliner // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2011. – Vol. 8, N 3. – P. 151–162.
76. Monthly high-dose vitamin D supplementation does not increase kidney stone risk or serum calcium: results from a randomized controlled trial / Z. Malihi, C.M. Lawes, Z. Wu [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2019. – Vol. 109, N 6. – P. 1578–1587.

77. Multimodal imaging reveals a unique autofluorescence signature of Randall's plaque / S. Winfree, C. Weiler, S.B. Bledsoe [et al.] // *Urolithiasis*. – 2021. – Vol. 49, N 2. – P. 123–135.
78. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing / M. Kuro-o, Y. Matsumura, H. Aizawa [et al.] // *Nature*. – 1997. – Vol. 390, N 6655. – P. 45–51.
79. Nanobacteria: an infectious cause for kidney stone formation / N. Ciftçioglu, M. Björklund, K. Kuorikoski [et al.] // *Kidney Int*. – 1999. – Vol. 56, N 5. – P. 1893–1898.
80. *Osteoprotegerin*-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification / N. Bucay, I. Sarosi, C.R. Dunstan [et al.] // *Genes. Dev*. – 1998. – Vol. 12, N 9. – P. 1260–1268.
81. Peerapen, P. Protective cellular mechanism of estrogen against kidney stone formation: a proteomics approach and functional validation / P. Peerapen, V. Thongboonkerd // *Proteomics*. – 2019. – Vol. 19, N 19. – P. e1900095.
82. Polymorphisms and haplotypes across the *osteoprotegerin* gene associated with bone mineral density and osteoporotic fractures / S. Jurado, X. Nogués, L. Agueda [et al.] // *Osteoporos. Int*. – 2010. – Vol. 21, N 2. – P. 287–296.
83. Polymorphisms in the *osteoprotegerin* gene are associated with osteoporotic fractures / B.L. Langdahl, M. Carstens, L. Stenkjaer, E.F. Eriksen // *J. Bone Miner. Res*. – 2002. – Vol. 17, N 7. – P. 1245–1255.
84. Raisz, L.G. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects / L.G. Raisz // *J. Clin. Invest*. – 2005. – Vol. 115, N 12. – P. 3318–3325.
85. Recent advances on the mechanisms of kidney stone formation (Review) / Z. Wang, Y. Zhang, J. Zhang [et al.] // *Int. J. Mol. Med*. – 2021. – Vol. 48, N 2. – P. 149.
86. Renal macrophage migration and crystal phagocytosis via inflammatory-related gene expression during kidney stone formation and elimination in mice: Detection by association analysis of stone-related gene expression and microstructural observation / A. Okada, T. Yasui, Y. Fujii [et al.] // *J. Bone Miner. Res*. – 2010. – Vol. 25, N 12. – P. 2701–2711.

87. Risk of Hypertension among First-Time Symptomatic Kidney Stone Formers / W. Kittanamongkolchai, K.C. Mara, R.A. Mehta [et al.] // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2017. – Vol. 12, N 3. – P. 476–482.
88. Role of Osteoprotegerin as Novel Marker in Urinary Stone Formers: A Pilot Study / S. Dayapule, S.P. Yamajala, A. Anand [et al.] // Nephro-Urol. Mon. – 2021. – Vol. 13, N 2. – P. e112974.
89. Roles of Macrophage Exosomes in Immune Response to Calcium Oxalate Monohydrate Crystals / N. Singhto, R. Kanlaya, A. Nilnumkhum, V. Thongboonkerd // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 316.
90. Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density / G. Thorleifsson, H. Holm, V. Edvardsson [et al.] // Nat. Genet. – 2009. – Vol. 41, N 8. – P. 926–930.
91. Taylor, E.N. Dietary calcium from dairy and nondairy sources, and risk of symptomatic kidney stones / E.N. Taylor, G.C. Curhan // J. Urol. – 2013. – Vol. 190, N 4. – P. 1255–1259.
92. Taylor, E.N. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones / E.N. Taylor, M.J. Stampfer, G.C. Curhan // JAMA. – 2005. – Vol. 293, N 4. – P. 455–462.
93. The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women / V. Mondockova, M. Adamkovicova, M. Lukacova [et al.] // BMC Med. Genet. – 2018. – Vol. 19, N 1. – P. 174.
94. The G allele of CaSR R990G polymorphism increases susceptibility to urolithiasis and hypercalciuria: evidences from a comprehensive meta-analysis / K. Liu, X. Wang, J. Ye [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2015. – Vol. 2015. – P. 958207.
95. The influence of metabolic syndrome and its components on the development of nephrolithiasis / C. Boyd, K. Wood, D. Whitaker, D.G. Assimos // Asian J. Urol. – 2018. – Vol. 5, N 4. – P. 215–222.

96. The microbiome of the urinary tract--a role beyond infection / S.A. Whiteside, H. Razvi, S. Dave [et al.] // *Nat. Rev. Urol.* – 2015. – Vol. 12, N 2. – P. 81–90.
97. The polymorphism of estrogen receptor alpha is important for metabolic consequences associated with menopause / J. Pinkas, M. Gujski, A. Wierzbinska-Stepniak [et al.] // *Endokrynol. Pol.* – 2016. – Vol. 67, N 6. – P. 608–614.
98. The relationship between urinary stone components and visceral adipose tissue using computed tomography--based fat delineation / J.H. Kim, S.W. Doo, W.J. Yang [et al.] // *Urology.* – 2014. – Vol. 84, N 1. – P. 27–31.
99. Urolithiasis prevalence in the Russian Federation: analysis of trends over a 15-year period / N. Gadzhiev, M. Prosyannikov, V. Malkhasyan [et al.] // *World J. Urol.* – 2021. – Vol. 39, N 10. – P. 3939–3944.
100. Vascular Disease and Kidney Stones: Abdominal Aortic Calcifications Are Associated with Low Urine pH and Hypocitraturia / N.D. Patel, R.D. Ward, J. Calle [et al.] // *J. Endourol.* – 2017. – Vol. 31, N 9. – P. 956–961.
101. Vitamin D and Calcium Supplementation Accelerates Randall's Plaque Formation in a Murine Model / E. Boudierlique, E. Tang, J. Perez [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2019. – Vol. 189, N 11. – P. 2171–2180.
102. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism: An Important Predictor of Arthritis Development / M. Mukhtar, N. Sheikh, S.K. Suqaina [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 8326246.
103. Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to urolithiasis: a meta-regression and meta-analysis / D. Imani, B. Razi, A. Khosrojerdi [et al.] // *BMC Nephrol.* – 2020. – Vol. 21, N 1. – P. 263.
104. Wei, K. Roles of the kidney in the formation, remodeling and repair of bone / K. Wei, Z. Yin, Y. Xie // *J. Nephrol.* – 2016. – Vol. 29, N 3. – P. 349–357.
105. WHO reform for a healthy future, Baku, Azerbaijan, 12–15 September 2011 / Regional Committee for Europe, Sixty-first session. – World health organization, 2011. – 33 p. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/335872> (дата обращения: 23.05.2023).

106. Wigner, P. Probiotics in the Prevention of the Calcium Oxalate Urolithiasis / P. Wigner, M. Bijak, J. Saluk-Bijak // *Cells*. – 2022. – Vol. 11, N 2. – P. 284.
107. Xu, Y. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging / Y. Xu, Z. Sun // *Endocr. Rev.* – 2015. – Vol. 36, N 2. – P. 174–193.
108. Yoshihara, H. Effect of sex hormones on oxalate-synthesizing enzymes in male and female rat livers / H. Yoshihara, S. Yamaguchi, S. Yachiku // *J. Urol.* – 1999. – Vol. 161, N 2. – P. 668–673.
109. Ziemba, J.B. Epidemiology and economics of nephrolithiasis / J.B. Ziemba, B.R. Matlaga // *Investig. Clin. Urol.* – 2017. – Vol. 58, N 5. – P. 299–306.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1 – Распределение пациентов по причинам развития МКБ при формировании основных групп	42
Рисунок 2 – Схема дизайна исследования.....	47
Рисунок 3 – Распределение по генотипам для гена TNFRSF11B (rs3134057).....	65
Рисунок 4 – Распределение по аллелям для гена TNFRSF11B (rs3134057).....	65
Рисунок 5 – Распределение по генотипам для гена ESR1 (rs851982).....	66
Рисунок 6 – Распределение по аллелям для гена ESR1 (rs851982).....	66
Рисунок 7 – Распределение по генотипам для гена K1 (rs526906).....	67
Рисунок 8 – Распределение по аллелям для гена K1 (rs526906).....	67
Рисунок 9 – Распределение по генотипам для гена VDR (rs851982).....	68
Рисунок 10 – Распределение по аллелям для гена VDR (rs851982).....	68
Рисунок 11 – Распределение по генотипам для гена CASR (rs2202127).....	69
Рисунок 12 – Распределение по аллелям для гена CASR (rs2202127).....	69
Рисунок 13 – <i>Распределение по генотипам (AA vs. AG+GG) для гена TNFRSF11B (rs3134057).....</i>	<i>71</i>

Рисунок 14 – Распределение по генотипам (AA+AG vs. GG) для гена KL (rs526906).....	72
Рисунок 15 – Распределение по генотипам для гена TNFRSF11B (rs3134057).....	75
Рисунок 16 – Распределение по аллелям для гена TNFRSF11B (rs3134057).....	75
Рисунок 17 – Распределение по генотипам для гена ESR1 (rs851982).....	76
Рисунок 18 – Распределение по аллелям для гена ESR1 (rs851982).....	76
Рисунок 19 – Распределение по генотипам для гена K1 (rs526906).....	77
Рисунок 20 – Распределение по аллелям для гена K1 (rs526906).....	77
Рисунок 21 – Распределение по генотипам для гена VDR (rs851982).....	78
Рисунок 22 – Распределение по аллелям для гена VDR (rs851982).....	78
Рисунок 23 – Распределение по генотипам для гена CASR (rs2202127).....	79
Рисунок 24 – Распределение по аллелям для гена CASR (rs2202127).....	79
Рисунок 25 - Сравнение концентрации сывороточного ОПГ в основных и контрольной группах.....	89
Рисунок 26 — ROC-кривая для оценки уровня сывороточного ОПГ в группе наблюдения №1.....	90
Рисунок 27 — Зависимость уровня ОПГ от распределения по генотипу AA против AG против GG в выборке в целом (N=73) (A), в группе наблюдения №1 (N=45) (B),	

в группе наблюдения №2 (N=28) (C), в контрольной группе (N=51) (D).....91

Рисунок 28 – Зависимость уровня остеопротегерина от распределения по генотипу AA+AG против GG в выборке в целом (N=73) (A), в группе наблюдения №1 (N=45) (B), в группе наблюдения №2 (N=28) (C), в контрольной группе (N=51) (D).....92

Рисунок 29 – Модель многомерной логистической регрессии для факторов, связанных с развитием рецидива кальций-оксалатного уролитиаза рецидивирующего течения.....94

Таблица 1 – Деление участников исследования в зависимости формы МКБ41

Таблица 2 – Распределение пациентов по возрасту и полу.....44

Таблица 3 – Пример ИРК для внесения данных пациентов.....45

Таблица 4 – Информация об изучаемых SNP и использованных для их выявления реактивах.....50

Таблица 5 – Информация об изучаемых SNP и проявлении их действия.....51

Таблица 6 – Возраст пациентов в группах сравнения.....54

Таблица 7 – ИМТ пациентов в группах сравнения.....55

Таблица 8 – Лабораторная характеристика групп сравнения.....58

Таблица 9 – Микробиологическое исследование мочи в группах сравнения.....	60
Таблица 10 – Сопутствующие заболевания среди исследуемых пациентов.....	61
Таблица 11 – Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №1.....	63
Таблица 12 – Результаты статистического анализа для группы наблюдения №1.....	71
Таблица 13 – Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №2.....	73
Таблица 14 – Результаты статистического анализа для группы наблюдения №2.....	81
Таблица 15 – Результаты молекулярно-генетического исследования в группах наблюдения №1 и №2.....	83
Таблица 16 – Результаты статистического анализа для групп наблюдения №1, 2.....	84
Таблица 17 – Результаты молекулярно-генетического исследования в группе наблюдения №1, 2 и контрольной группе.....	86
Таблица 18 – Результаты статистического анализа для групп наблюдения №1, 2 и контрольной.....	88