

© Я.Ф.Зверев, В.М.Брюханов, В.В.Лампатов, А.Ю.Жариков, 2009
УДК 616.61-003.7-092:546.41

Я.Ф. Зверев¹, В.М. Брюханов¹, В.В. Лампатов¹, А.Ю. Жариков¹

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ КАЛЬЦИЕВОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Ya.Ph. Zverev, V.M. Brukhanov, V.V. Lampatov, A.Yu. Jaricov

THE CURRENT VIEWS ON THE ROLE OF PHYSICO-CHEMICAL FACTORS IN PATHOGENESIS OF CALCIUM NEPHROLYTHIASIS

¹ Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

В обзоре приводится анализ современных взглядов на патогенез кальциевого нефролитиаза с позиций изменений ряда физико-химических параметров, в том числе, объемов потребляемой и выделяемой жидкости, пересыщения мочи определенными солями, верхней метастабильности и др. Приводятся сведения о действии таких природных ингибиторов кристаллизации как цитрат, магний, фитат, пирофосфат, которые рассматриваются в качестве перспективных средств профилактики рецидивов мочекаменной болезни.

Ключевые слова: кальциевый нефролитиаз, физико-химические факторы риска, природные ингибиторы кристаллизации.

ABSTRACT

In the review were evaluated the modern ways on pathogenesis of calcium nephrolythiasis from the position of the various changes of physico-chemical parameters, such as amount, volume of intake and excreted fluid, the enhancement of the urine with certain salts, top metastability etc. The data on the action of such natural inhibitors of crystallization such as citrate, magnesium, phitad, pyrophosphate, which were viewed as perspective methods of prophylaxis of recurrence of urinary kidney disease were stated.

Key words: calcium nephrolythiasis, physico-chemical risk factors, natural inhibitors of crystallization.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последние годы в лечении мочекаменной болезни (МКБ), до сих пор сохраняется целый ряд серьезных проблем, разрешить которые пока не удастся. Как известно, основные достижения последних лет связаны с воздействием на уже образовавшиеся мочевые конкременты, что, к сожалению, не имеет отношения к причинам и патогенетическим механизмам развития болезни. Поэтому, как правило, радикального излечения не происходит. Исходя из этого, становится ясно, насколько важно понимание основных звеньев патогенеза МКБ, обуславливающих процесс литогенеза, что, в свою очередь, дает основания для поиска новых терапевтических мишеней и стратегий лечения.

В последние десятилетия зафиксирован существенный рост МКБ, особенно в странах цивилизованного мира. Сегодня здесь до 10% населения страдает от почечных камней, причем наиболее подвержены нефролитиазу белые мужчины (12-

15%). Установлено, что болезнь часто рецидивирует. Так, в пределах 1 года новые конкременты выявляются в среднем у 10%, в интервале 5 лет – у 35%, в пределах 10 лет – у 50% пациентов [1,2]. При этом 80% образовавшихся почечных камней представляют собой кальций-содержащие конкременты: оксалаты и фосфаты кальция. Оксалаты кальция, в свою очередь, подразделяются на кальция оксалата моногидрат, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (СОМ, вевеллит) и кальция оксалата дигидрат, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (СОД, ведделлит). Камни, содержащие фосфат кальция, присутствуют в моче в виде апатитов: чаще – кальция фосфата основного, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 \cdot \text{OH}$ (гидроксилапатит) и кальция гидрофосфата, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (брушит) [3].

С чего начинается процесс образования Са-содержащих почечных камней? На этот счет единого мнения до сих пор нет. Давно известно, что моча представляет собой пересыщенный раствор, который в определенных условиях подвергается процессу кристаллизации. Анализ этих условий и посвящен данный обзор.

Со второй половины XIX века существует так

Зверев Я.Ф. Алтайский медицинский университет, кафедра фармакологии, 656038, г.Барнаул, пр.Ленина, 40, тел.: (3852) 26-08-35; E-mail: zver@asmu.ru

называемая кристаллизационная теория камнеобразования (Heller, 1861; Ulzma, 1890), интерес к которой периодически вспыхивает, а затем, как правило, затухает [3,4]. Не подвергается сомнению, что гиперкальциурия и гипероксалурия являются этиологическими факторами камнеобразования [5]. В то же время, оба эти фактора часто присутствуют в моче здоровых людей, что однако не приводит к инициированию кристаллизации и формированию конкрементов. И все же, образование пересыщенной в отношении оксалатов и фосфатов кальция мочи, как правило, является необходимым условием спонтанного формирования кристаллического ядра (нуклеация) с последующей агрегацией и осаждением кристаллов и ростом почечных конкрементов. Однако к утверждениям типа «... не всегда пересыщение мочи ведет к камням, но всегда при образовании камней моча пересыщена...» также следует относиться с осторожностью, поскольку существуют клинические наблюдения, согласно которым у ряда пациентов с оксалатными, фосфатными и уратными камнями, рецидивирующими на момент обследования, пересыщение соответствующими солями отсутствовало или его величина была незначительной [6]. Правда, цитируемые авторы находят объяснение в том, что отмеченный феномен обусловлен изменением ситуации между временем появления камней и моментом сбора мочи, производимым на фоне интенсивного лечения, которое обусловило значительное повышение объема мочи и снижение экскреции кальция.

Для того, чтобы определить физико-химические закономерности, обеспечивающие процесс кристаллизации, в свое время был предложен ряд соответствующих характеристик состояния мочи, из которых наиболее важное значение приобрели коэффициент пересыщения (SS) и верхняя граница метастабильности (ULM). Первый показывает отношение концентрации в моче определенной соли к ее растворимости (к ее концентрации при насыщении) [7-9]. Если этот коэффициент превышает 1, создаются условия для образования и роста кристаллов, и такая моча называется метастабильной. А избыток конкретной кальциевой соли, превышающий величину ее растворимости, и обеспечивает осаждение. Добавляя соли кальция к моче, можно найти величину SS, необходимую для преципитации, т.е. образования плотной фазы оксалата или фосфата кальция. Эта величина называется верхней границей метастабильности (ULM) и варьируется, как правило, пропорционально изменениям SS [10]. Кроме того, был предложен показатель «допустимого прироста» для кальция и оксалата. Он

представляет собой дополнительную величину Са, оксалата и брусшита, которая должна быть добавлена к моче для обеспечения спонтанной преципитации соответствующих солей [11].

Результаты экспериментов показывают, что пересыщение мочи само по себе уже является фактором, инициирующим образование мочевых камней. По крайней мере, увеличение потребления с пищей кальция или фосфора приводило к пересыщению мочи гиперкальциурических крыс фосфатом кальция и образованию у них соответствующих конкрементов [10,12]. Многочисленные экспериментальные данные, полученные как *in vitro*, так и *in vivo*, показали, что уровень пересыщения мочи кальциевыми солями у гиперкальциурических животных и пациентов с нефролитиазом существенно повышается. Причем величина пересыщения подвергается значительным циркадным колебаниям, что может обеспечить появление нескольких пиков преципитации на протяжении суток [13,14]. Интересно, что концентрация кальциевых солей по ходу продвижения мочи вдоль нефрона существенно изменяется. С помощью современных методов математического моделирования установлено, что профильтровавшаяся моча, как правило, недонасыщена в отношении концентрации оксалата кальция (CaOx) и сохраняется таковой вплоть до конечных отделов проксимальных канальцев нефрона. Затем в связи с интенсивной реабсорбцией воды в нисходящем отделе петли Генле моча становится резко пересыщенной оксалатом кальция, что создает условия здесь для нуклеации и кристаллизации, особенно в условиях гипероксалурии. Далее пересыщение падает из-за реабсорбции солей в восходящем отделе петли Генле, и на коротком участке дистального канальца моча вновь становится недонасыщенной с тем, чтобы в собирательных трубках стать вновь резко пересыщенной, что обуславливает здесь процесс спонтанной кристаллизации [15].

Итак, на фоне образования пересыщенной мочи создаются условия для спонтанной нуклеации, т.е. образования первичного кристаллического ядра. Это ядро становится центром последующей агрегации и роста кристаллов с их адгезией к стенкам почечных канальцев. При этом кристаллизация может быть гомогенной, когда в процесс вовлекаются те же химические соединения, из которых состоит ядро нуклеации, или гетерогенной, обусловленной осаждением веществ другого химического состава со сходной кристаллической решеткой. Давно замечено, что в подавляющем большинстве случаев формирования кальциевых камней процесс начинается с образования кальций-

фосфатного ядра (гидроксилапатит, брушит), вокруг которого затем происходит отложение кальций-оксалатных солей COM и COD [16]. Установлено, что в моче пациентов с гипероксалурией коэффициент SS в отношении оксалата кальция редко превышает 30. По мнению ряда авторов, такая величина пересыщения создает условия главным образом для гетерогенной нуклеации. Для осуществления гомогенной нуклеации необходим более высокий коэффициент SS в отношении CaOx , по расчетам превышающий 80 [17,18].

В экспериментах с использованием образцов отцентрифугированной и профильтрованной суточной мочи людей контролировали процесс образования кристаллов при добавлении оксалата натрия и хлорида кальция в количествах, достаточных для образования кристаллов CaOx [18]. Оказалось, что уровень кристаллизации в этих условиях был количественно и качественно связан с величиной пересыщения мочи относительно оксалата кальция. При SS CaOx , равном 10, фиксировалось формирование мелких кристаллов одинаковой формы, морфологически представляющих собой COD. При повышении SS до 30 отмечалось резкое возрастание количества таких же кристаллов. Когда же величина SS для оксалата кальция превосходила 50, регистрировалось образование более крупных кристаллов различной формы и множество агрегатов кристаллов. Важно отметить, что до величины SS 10 моча сохраняла толерантность к формированию кристаллов оксалата кальция, несмотря на значительную степень пересыщения. Подобные закономерности были зафиксированы ранее в экспериментах *in vitro* при моделировании мочи с помощью буферных растворов [19]. Важное (в первую очередь диагностическое) значение имеет выявленное соответствие пересыщения мочи определенными солями составу образующихся почечных камней. Причем величина пересыщения мочи без лечения, как правило, остается умеренно стабильной на протяжении месяцев и даже лет [20,21].

Одновременно для оксалата кальция была установлена определенная связь между уровнем пересыщения мочи и верхней границей метастабильности [22]. Оказалось, что ULM по непонятной пока причине варьируется с изменениями SS. В экспериментах на здоровых крысах переход с низко-кальциевой (0,02% Ca) на высоко-кальциевую диету (1,2% Ca) приводил к увеличению SS CaOx с 0,8 до 8,2. Параллельно наблюдался рост верхней границы метастабильности с 11,8 до 36,0 [10]. Одновременно в приведенном исследовании были использованы инбредные крысы линии GHS, со-

зданные специально для изучения экспериментального кальциевого нефролитиаза и экскретирующие в 8-10 раз больше кальция, чем нормальные животные [23]. Оказалось, что и у этих крыс качественно выявлялась сходная закономерность, имевшая, впрочем, количественные отличия. Изменение диеты у GHS крыс приводило к росту как SS для оксалата кальция (с 1,5 до 12,0), так и ULM (с 17,0 до 50,0). Аналогичные взаимоотношения были зафиксированы и у 50 пациентов с оксалатным нефролитиазом [24]. Однако в отношении фосфата кальция такая закономерность оказалась нарушенной. В приведенных выше экспериментах [10] изменение кальциевой диеты приводило к увеличению SS в отношении CaP как у нормальных (с 0,6 до 2,4), так и у GHS крыс (с 1,1 до 8,0). А вот величина ULM при этом существенно не изменялась: 8 против 7 и 7 против 11 соответственно. Такая же картина прослеживалась и у людей.

Таким образом, по-видимому, увеличение SS CaOx сопровождается соответствующим повышением верхней границы метастабильности для оксалата кальция, что позволяет почке избегать риска образования первичных оксалатных камней. Отсутствие же подобного параллелизма в отношении фосфата кальция в условиях повышения его концентрации уменьшает промежуток между SS и ULM для CaP , обуславливая высокий риск кристаллизации как у крыс, так и у людей. Этот факт позволил высказать предположение, согласно которому описанная выше закономерность параллельного роста SS и ULM в отношении CaOx защищает от формирования оксалатных камней, если не присутствует ядро нуклеации, образованное гораздо более легко осаждаемыми кристаллами фосфата кальция [25]. Одновременно в ряде исследований было показано, что у пациентов с оксалатным нефролитиазом расстояние между уровнем пересыщения и верхней границей метастабильности относительно CaOx все же несколько снижено по сравнению со здоровыми лицами. Так, в клинических экспериментах, включавших наблюдение за мужчинами и женщинами с оксалатными камнями почек, показано снижение ULM относительно SS не только для фосфата, но и оксалата кальция [8,11,26,27]. В любом случае, из приведенных данных следует, что показатели пересыщения и верхней границы метастабильности в отношении кальциевых солей у пациентов с нефролитиазом являются важными характеристиками формирования почечных камней у человека.

Появились также сведения, указывающие на то, что высокое пересыщение оксалатом кальция само по себе оказывает повреждающее воздей-

ствие на почечную ткань. В экспериментах на крысах Sprague-Dawley, на протяжении 4 недель получавших в виде питья 1%-ный раствор этиленгликоля, наряду с явными признаками нефролитиаза (повышение мочевой экскреции оксалата, пересыщение мочи оксалатом кальция, развитие кристаллурии, появление кальциевых депозитов) выявлялась картина тубулоинтерстициального повреждения. Морфологическое исследование почек показало наличие воспалительных инфильтратов, содержащих значительные количества моноцитов, макрофагов, уровня коллагена III типа и TGF бета 1, а также явлений интерстициального фиброза. Анализ показал наличие высокой степени корреляции между мочевым SS CaOx и параметрами тубулоинтерстициального повреждения [14]. Сходные результаты были получены и в нашей лаборатории, когда развитие экспериментального оксалатного нефролитиаза сопровождалось выраженной ферментурией и активацией свободно-радикального окисления в почках [28,29]. Попутно заметим, что приведенные данные имеют прямое отношение к острой дискуссии, развернувшейся в последние годы на страницах печати относительно наличия или отсутствия прямой связи между процессами литогенеза и повреждения почечного эпителия, что будет более подробно проанализировано нами в свое время.

Существует ряд факторов, изменяющих показатели пересыщения мочи, а значит способных повлиять на процесс кристаллизации и формирования почечных камней. Одним из таких факторов является объем протекающей по канальцам почек жидкости.

Естественным способом уменьшения пересыщения мочи является попытка увеличения ее объема с помощью повышения потребления жидкости. И действительно, водная нагрузка, даваемая людям, наряду с ростом диуреза приводит к параллельному снижению пересыщения мочи оксалатом кальция [30]. Потребление 500 мл минеральной воды на ночь обусловило повышение 8-часового диуреза как у здоровых лиц, так и у пациентов с оксалатным нефролитиазом: с 307 до 572 мл и с 266 до 518 мл соответственно. Показатель SS при этом снижался соответственно с 8,7 до 5,1 и с 10,4 до 5,0. Однако в соответствии с закономерностью, выявленной J.R.Asplin и соавт. [10], одновременно наблюдалось некоторое снижение верхней границы метастабильности: с 21,6 до 20,5 мг/л у контрольных лиц и с 18,7 до 17,1 мг/л у пациентов с оксалатным нефролитиазом. По мнению цитируемых авторов [30], это снижение ULM обусловлено параллельно возникающим разбавлением есте-

ственных ингибиторов нуклеации. Таким образом, разведение мочи, индуцированное водной нагрузкой, инициирует двойной эффект: снижение пересыщения CaOx, что обуславливает рост толерантности к оксалатной нагрузке с одной стороны, и одновременное уменьшение относительного содержания ингибиторов кристаллизации, что обеспечивает тенденцию к снижению верхней границы метастабильности. Ради справедливости отметим, что в еще более раннем исследовании водная нагрузка, индуцированная потреблением дистиллированной воды, наряду со снижением величины пересыщения CaOx в суточной моче сопровождалась значительным ростом верхней границы метастабильности [22]. В любом случае, следует признать, что водная нагрузка является протективным мероприятием у пациентов с оксалатным нефролитиазом, поскольку приводит к снижению пересыщения мочи оксалатом кальция.

Долгосрочное наблюдение за пациентами с кальциевым нефролитиазом показало, что лица, потреблявшие ежедневно на протяжении 5 лет повышенное количество воды, дали значительно меньшее число рецидивов образования конкрементов в сравнении с теми, чей питьевой режим не изменялся: 12 из 99 против 27 из 100 пациентов соответственно [31]. При этом средний интервал возникновения повторных камней составил в первой группе в среднем 38,7 месяцев, а во второй – 25, 1 месяца. Параллельно в группе больных, потреблявших большее количество воды, резко снижались показатели пересыщения оксалатом кальция, брусшитом и мочевой кислотой. Подобные результаты были получены и в других клинических исследованиях. Причем показано, что потребление мягкой воды оказывает более благоприятный эффект. По крайней мере, у 18 пациентов с идиопатическим нефролитиазом потребление 2 л мягкой воды (содержание Ca^{2+} – 22 мг/л) на протяжении лишь одной недели привело к 50%-ному снижению содержания ионов кальция в моче в сравнении с показателем, зафиксированным у этих же лиц в результате потребления более жесткой воды, содержавшей 255 мг/л Ca^{2+} [32]. Интересно, что, по мнению некоторых авторов, на фоне высокого потребления жидкости отнюдь не происходит снижения активности природных ингибиторов литогенеза, о чем мы упоминали выше [33]. А вид потребляемой жидкости, как полагают эти же авторы, не имеет принципиального значения, поскольку положительный эффект при кальциевом нефролитиазе был получен на фоне приема кофе, чая, пива и вина. Так что, по их мнению, и сегодня высокое потребление жидкости, особенно воды, ос-

тается наиболее мощным и экономичным средством предупреждения кристаллизации, хотя, к сожалению, часто не используется пациентами.

Как выяснилось относительно недавно, от объема потребляемой жидкости в значительной степени зависит состояние здоровья людей в условиях воздействия невесомости. Сегодня хорошо известно, что факторами риска космического полета наряду с потерями костной ткани, сердечно-сосудистыми изменениями и мышечной атрофией является активация литогенеза. Установлено, что у ряда астронавтов и космонавтов даже при кратковременном пребывании в невесомости происходит пересыщение мочи камнеобразующими солями, ведущее к образованию мочевых камней и в послеполетный период [34,35]. Не удивительно, что этот эффект пересыщения оксалатом кальция, брусничом, уратами и струвитом был обратно пропорционален объему потребленной жидкости и выделенной мочи. Показано, что выделение более 2 л мочи в сутки существенно снижает риск нефролитиаза, который достигает наибольшей степени у тех астронавтов, суточный диурез которых не превышает 1 л [36].

Примечательно, что описанные клинические данные получили подтверждение в экспериментах *in vitro*. Так, при разбавлении мочи, собранной у пациентов с CaOx-нефролитиазом, и внесением в нее 1,3 ммоль/л оксалата процесс кристаллизации был значительно менее выражен, чем в неразведенной моче. При этом происходило уменьшение образования кристаллов COD и COM, общего количества кристаллических агрегатов и индекса агрегации, отражающего величину зоны, занятой агрегатами кристаллов [37]. Важно отметить, что в другой работе этих же исследователей известные ингибиторы кристаллизации магний и цитрат по не совсем понятной причине уменьшали общее количество кристаллов и их агрегатов лишь в условиях разбавленной мочи [38].

В то же время, нельзя не упомянуть и об исследованиях, ограничивающих неумеренный порой оптимизм в отношении потребления больших объемов жидкости при нефролитиазе [39]. Во-первых, большое исследование, охватившее 2877 пациентов с нефролитиазом, показало, что в результате лечения подавляющему большинству больных удастся повысить средне-суточное выделение жидкости не более чем на 0,3 л, чего явно недостаточно для достижения желаемого эффекта. Во-вторых, повышение объема выпитой воды, как правило, приводит к увеличению вторичного потребления Na^+ и Ca^{2+} , повышение концентрации которых в моче отчасти нивелирует эффект водной

нагрузки. Таким образом, врач должен добиваться большего повышения объема выпиваемой жидкости и одновременно быть бдительным в отношении увеличения потребления солей вслед за водной нагрузкой.

По всей вероятности, снижение верхней границы метастабильности, наблюдаемое у пациентов с нефролитиазом, как и инициирование процесса кристаллизации, возникает при нарушении равновесия между пересыщением мочи камнеобразующими солями и находящимися в моче природными факторами ингибирования кристаллизации. К таким факторам относятся цитрат, магний, фитат и пирофосфат.

Обследование 79 пациентов с идиопатическим кальциевым нефролитиазом, проведенное недавно в Таиланде, показало, что 69,6% из них составили лица со сниженной концентрацией цитрата в моче, а наиболее частой комбинацией факторов риска явилась гипоцитратурия + низкий объем выделяемой мочи, зафиксированный у 8,9% пациентов [40]. При этом у отмеченных лиц было существенно увеличено соотношение мочевого кальция к мочевому цитрату и показатель пересыщения в отношении оксалата кальция по сравнению с показателями здоровых людей. Сходные результаты были получены и другими клиницистами. У многих из обследованных 50 индийских детей разных возрастов (от 1 до 12 лет) экскреция цитрата, определявшаяся в порциях 24-часовой мочи, оказалась резко сниженной по сравнению с показателями 150 здоровых детей. Причем наибольшие отличия фиксировались у мальчиков, как и образование почечных камней [41]. Интересно, что с возрастом экскреция цитрата с мочой несколько возрастала, но все же была, как правило, существенно ниже, чем в контрольной группе. Таким образом, можно считать установленным, что важнейшим фактором риска возникновения кальциевых камней является гипоцитратурия, частота которой колеблется по разным данным в пределах 30-70% пациентов с кальциевым нефролитиазом [40,42-44].

Способность цитрата ослаблять процесс кристаллизации в моче нашла подтверждение в ряде экспериментальных исследований, проведенных *in vitro*. При выращивании на протяжении как минимум 24 дней кальций-оксалатных камней в искусственной моче добавление 2 и 6 ммоль/л цитрата приводило к существенному замедлению скорости роста конкрементов, превышавшему 50% при использовании большей концентрации цитрата [45]. Одновременно наблюдалось достоверное снижение концентрации ионизированного кальция в сре-

де роста камней и увеличение рН примерно на 0,07 ед. Примечательно, что аналогичные закономерности выявлялись не только в процессе агрегации кристаллов и роста камней, но и на более ранних стадиях литогенеза, т.е. во время нуклеации кристаллов [46,47]. В другой работе добавление цитрата ослабляло рост и агрегацию кристаллов CaOx , инициируемых *in vitro* смешиванием растворов, содержащих CaCl_2 и NaOx [48]. Аналогичный эффект цитрата фиксировался и в отношении агрегации кристаллов гидроксилатапата. В растворе, имитирующем мочу дистальных канальцев почек, цитрат в диапазоне концентраций 0,05–4 ммоль/л оказывал прямой зависимый от концентрации ингибирующий эффект [49]. Добавление цитрата к образцам 24-часовой мочи здоровых мужчин приводило к существенному росту верхнего лимита метастабильности в отношении фосфата кальция, что подтверждалось изменением оптической плотности мочи при добавлении Са или Р [50]. При этом показатель ULM возрастал на 0,4 единицы на 1 ммоль цитрата на литр. Интересно, что, в отличие от цитрата, добавление кальция и фосфора не влияло на величину показателя метастабильности и лишь сдвиг рН мочи в щелочную сторону (с 5,9 до 6,4) изменял ULM сходным образом. Здесь следует отметить, что синергистический эффект цитрата и щелочного сдвига рН был показан и другими исследователями [51], что указывает на целесообразность сочетания этих факторов в предупреждении формирования кальций-оксалатных камней. Эти наблюдения позволили рекомендовать широкое применение щелочного цитрата при нефролитиазе [45,52]. В то же время, здесь следует проявлять определенную осторожность, имея в виду, что сдвиг рН мочи в щелочную сторону может способствовать образованию камней, содержащих фосфат кальция [53]. Отметим также точку зрения, согласно которой эффект цитрата *in vitro* проявляется только в условиях разведенной мочи, а при создании концентрированной мочи – отсутствует [38]. Этой точке зрения соответствуют данные, полученные при исследовании большого количества образцов мочи, собранной у 4809 пациентов с оксалатным нефролитиазом и у 317 контрольных лиц [54]. Оказалось, что увеличение содержания цитрата в моче с 0,5 до 5,0 ммоль/л снижало частоту кристаллизации с 32,4 до 10,1%. Однако эта закономерность прослеживалась лишь при концентрации оксалата кальция в моче на уровне 1–2 ммоль/л. Когда же этот показатель превосходил 3 ммоль/л, увеличение экскреции цитрата с мочой не оказывало дальнейшего влияния на частоту кристаллизации. Таким образом, как и в пре-

дыдущем исследовании, авторы делают вывод, согласно которому эффективность цитрата обратно пропорциональна концентрации оксалата кальция в моче и проявляется лишь в условиях выделения повышенного объема мочи. Интересно, что и в ряде других экспериментов *in vitro* ингибирующий потенциал цитрата не зависел от изменений его концентрации. Очевидно, максимальный эффект цитрата в отношении кристаллизации оксалата кальция *in vitro* достигается при миллимолярных, сходных с естественными, концентрациях, и дальнейшего прироста не наблюдается [46,55]. По-видимому, такие концентрации цитрата обеспечивают два основных эффекта в отношении вновь образующихся *in vitro* частиц CaOx : преципитацию значительно меньших кристаллов и ослабление образования их агрегатов [46,56].

Весьма неожиданные данные, касающиеся благоприятного эффекта цитрата не так давно были получены *in vitro* на клеточных культурах [57]. На фоне взаимодействия ионов оксалата или кристаллов оксалата кальция с культурами почечных клеток линий LLC-PK1 и MDCK добавление цитрата сопровождалось снижением высвобождения в среду лактатдегидрогеназы, уменьшением продукции перекиси водорода и увеличением содержания глутамата. Представленные результаты трактуются авторами как протективное действие цитрата в отношении активации процесса липидной пероксидации, индуцируемой оксалатом и кристаллами CaOx , что указывает на полезность применения препаратов лимонной кислоты при кальций-оксалатном нефролитиазе.

Почти 30 лет назад была выстроена концепция относительно комплекснообразующего действия цитрата [58]. Согласно этой концепции цитрат связывает в моче свободный ионизированный кальций, а уменьшение концентрации последнего обеспечивает снижение степени пересыщения кальциевых солей. Кроме того, взаимодействуя с соединениями кальция в образующихся или уже образовавшихся мочевых кристаллах, цитрат предотвращает или замедляет их рост [59]. Естественно, что снижение концентрации свободного кальция должно обусловить соответствующее повышение содержания соединений, в состав которых входит связанный кальций. По всей вероятности, таким соединением является кальций-цитрат-фосфатный комплекс $[\text{CaCitPO}_4]^{4-}$, концентрация которого при применении минеральной воды, содержащей цитрат, значительно возрастала как у пациентов, так и у здоровых лиц [60]. Образование $[\text{CaCitPO}_4]^{4-}$ возникает как результат депротонизации H_2PO_4^- и HPO_4^{2-} в условиях относительно высокого рН. Это

и приводит к снижению количества свободных ионов Ca^{2+} , потенциально «предназначенных» для связывания с оксалатом и фосфатом [61]. Представляется важным, что весь этот процесс происходит лишь в определенном диапазоне pH (6,07-7,50). Это позволило цитируемым авторам высказать предположение о том, что образование вышеупомянутого кальций-цитрат-фосфатного комплекса в моче даже в большей степени зависит от повышения pH, чем от концентрации цитрата.

Использование атомно-силовой микроскопии *in situ* совместно с методом молекулярного моделирования показало, что наиболее важными факторами, определяющими силу связывания цитрата с кристаллами кальция оксалата моногидрата, являются связывание COO^- группировки цитрата с кальцием кристаллической решетки, а также водородные связи, возникающие между ОН-группой цитрата и оксалатной группой [62-64]. При этом воздействие осуществляется преимущественно на (101) грани образующихся кристаллов, изменяя их морфологию и кинетику, что обуславливает снижение их поверхностной энергии [62].

Таким образом, из вышеизложенного следует, что процесс кристаллизации при оксалатном нефролитиазе в значительной степени определяется содержанием в моче солей лимонной кислоты и уровнем pH окружающей среды. Сдвиг pH в кислую сторону и гипоцитратурия создают условия для преципитации оксалата кальция с последующим образованием почечных камней. Противоположная ситуация, обусловленная повышением pH мочи и гиперцитратурией, напротив, зачастую предупреждает литогенез.

Итак, гипоцитратурия является фактором риска развития нефролитиаза и выявляется более чем у 50% пациентов с мочекаменной болезнью [59,65,66]. При этом установлено, что гипоцитратурия обусловлена отнюдь не снижением желудочно-кишечной абсорбции цитрата, что навело на мысль о возможных нарушениях его почечного транспорта [67]. Относительно недавно выяснилось, что этот процесс обеспечивается Na^+ /дикарбоксилат котранспортером-1 (NaDC-1), который экспрессирован на апикальной мембране клеток проксимальных канальцев и осуществляет здесь реабсорбцию цитрата, а также сукцината и α -кетоглутарата [68,69]. Изучение возможной роли NaDC-1 в развитии нефролитиаза показало, что в почках крыс, получавших этиленгликоль, повышение экспрессии NaDC-1 и его мРНК сочеталось с уменьшением экскреции цитрата с мочой. Введение же животным цитрата калия существенно облегчало течение экспериментальной патологии,

значительно снижая экспрессию NaDC-1 (и его мРНК) и повышая содержание цитрата в моче [70]. В исследовании японских авторов показано, что мутация гена hNaDC-1 сочеталась у пациентов с нефролитиазом со снижением мочевой экскреции цитрата, что могло обусловить развитие гипоцитратурии и нефролитиаза [71].

Таким образом, экспрессия Na^+ /дикарбоксилат котранспортера-1 может играть важную роль в развитии кальциевого нефролитиаза.

Давно обсуждается роль мочевого Mg и магний-содержащих препаратов в образовании кальциевых камней. Известно, что у 25-30% пациентов с кальциевым нефролитиазом фиксируется гипомагниурия и снижение в моче соотношения $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ [72,73]. Соответственно, увеличение содержания Mg^{2+} в моче должно препятствовать развитию кальциевой кристаллизации. Такие сведения существуют, хотя, отметим сразу, они убеждают далеко не всех, несмотря на то, что история применения солей магния при мочекаменной болезни берет свое начало с 17-18 столетий. Прием Mg в дозе 500 мг/сутки в форме $\text{Mg}(\text{OH})_2$ на протяжении 4 лет пациентами с рецидивирующими кальциевыми камнями и без признаков дефицита магния привело к целому ряду благоприятных изменений [74]. Частота рецидивов образования почечных конкрементов снижалась в 10 раз (с 0,8 до 0,08 камня/год на одного пациента). У 85% больных на протяжении периода наблюдения не было зафиксировано образования новых камней, тогда как в контрольной группе пациентов, не получавших магний, у 59% выявлялось образование новых почечных камней. Сходные результаты были получены и в другом более позднем исследовании с привлечением пациентов с низкой мочевой экскрецией Mg^{2+} [75]. В этой работе частота рецидивов снижалась с 0,75 до 0,11 камня/год на одного человека после приема 500 мг/сутки $\text{Mg}(\text{OH})_2$ на протяжении 3, 12 и 18 месяцев. При этом образование кальций-оксалатных почечных камней снижалось главным образом за счет уменьшения мочевой концентрации оксалата, но не кальция. Авторы склонны объяснить это снижением кишечной абсорбции оксалата благодаря образованию в кишечнике нерастворимого и абсорбируемого оксалата магния. В тоже время, получен ряд косвенных данных, указывающих на участие магния в образовании камней непосредственно в почках. В экспериментах на крысах, получавших магний-дефицитную диету, внутриканальцевые отложения кальция оксалата моногидрата выявлялись уже через 24 часа после начала потребления 1%-ного этиленгликоля с питьевой водой. А у животных, не

имевших дефицита магния, внутриканальцевые отложения не обнаруживались и после 11 дней потребления этиленгликоля [76]. Приведенные авторами зафиксировали появление полосок клейковидного материала, происходящего от апикальной мембраны почечного канальца и прилипающего к кристаллам, способствуя за счет этого иммобилизации последних внутри канальцев. В других недавно проведенных экспериментах на крысах длительное применение различных солей магния вызывало существенное снижение уровня кальция и фосфатов в плазме крови и моче, а также ослабление выраженности кристаллурии у животных, получавших высоко-кальцевую диету. При этом наибольшим эффектом обладали магния L-аспарагинат, его сочетанное введение с витамином B₆ и комбинированный препарат, содержащий лактат магния и витамин B₆ [77]. В исследовании, проведенном *in vitro*, была изучена возможная роль взаимодействия образующихся кристаллов с магнием в условиях, приближенных к мочевым. Производили мониторинг развития отдельного кристалла кальция оксалата моногидрата, помещенного на 1 год в раствор магния гексагидрата. Оказалось, что в этих условиях не происходило сколько-нибудь значимого инкорпорирования Mg в структуру вееллита. Вместо этого магний адсорбировался на поверхности кристалла в соответствии с силами электрического взаимодействия и препятствовал адгезии кристаллов СОМ на культивируемых почечных клетках [78]. Это наблюдение позволило авторам предположить наличие поверхностного взаимодействия Mg²⁺ с кристаллами, препятствующего их дальнейшему контакту с молекулами, заякоренными на клеточной поверхности. В других экспериментах *in vitro* добавление магния независимо от концентрации ингибировало нуклеацию кристаллов СаОх, инициированную смешиванием СаCl₂ и NaОх при pH 5,7 и температуре 37°C [48].

И все же, в последние годы в отношении значимости прямого ингибирующего влияния магния на образование кальциевых камней преобладает скептическая точка зрения. Во-первых, в целом ряде исследований не удалось продемонстрировать подавления формирования почечных конкрементов при добавлении Mg к пище у пациентов с нефролитиазом [79-81]. В то же время, сочетанное применение магния и цитрата калия дает, как правило, благоприятный аддитивный эффект как в экспериментах *in vitro*, так и в клинических исследованиях [82,83]. Так, добавление к диете смешанной соли, включавшей K, Mg и цитрат, на 90% уменьшало частоту рецидивирования кальциевых камней [81]. Выяснилось, что использование такого комплекса

способствует увеличению концентрации в моче цитрата, что обуславливает более активное хелатирование мочевого кальция. В результате этого уменьшается величина пересыщения мочи оксалатом кальция, создаются условия, способствующие сдвигу pH мочи в щелочную сторону, что значительно снижает риск образования кальций-оксалатных конкрементов [80-84].

Более определенные сведения касаются способности ингибировать образование кальциевых камней у солей фитиновой кислоты – фитатов. Правда, сразу отметим, что этих сведений не так уж много, и представлены они главным образом одним коллективом авторов из Лаборатории исследования почечного литиаза Университета Балеарских Островов (Испания) под руководством проф. F.Grases. Эксперименты, поставленные *in vitro* и *in vivo*, а также клинические наблюдения показали, что фитат (инозитол гексафосфат) играет значительную роль в ингибировании кристаллизации кальциевых солей в моче и может рассматриваться как важный фактор в предупреждении и лечении нефролитиаза [85]. Показано, что у пациентов с кальций-оксалатными камнями почек экскреция фитата с мочой значительно ниже, чем у здоровых добровольцев, а строгое ограничение фитата в диете приводит к быстрому 50%-ному снижению его экскреции с мочой [86]. Сходные результаты были получены и на животных. В почках самцов крыс с нефролитиазом, инициированным применением этиленгликоля, получавших фитиновую кислоту, количество депозитов в области кончика почечного сосочка и общее содержание кальция в папиллярной ткани были значительно меньшими, чем у контрольных животных, потреблявших этиленгликоль без какого-либо лечения [87]. Аналогичный эффект фитата был зарегистрирован не только в почечной ткани, но и в синтетической моче, где фитат в концентрации 1,5 мг/л ингибировал отложение кальция оксалата моногидрата на поверхности фрагментов гидроксилатапатитных камней [88]. В другом недавнем исследовании, проведенном учеными из Великобритании, было показано, что фитат снижал содержание ионизированного кальция в искусственной и цельной моче, повышал лимит метастабильности в отношении СаОх и подавлял *in vitro* скорость роста кальциевых камней [89]. Интересно, что в последней работе не было выявлено четкого соответствия между отмеченными эффектами фитата: т.е. ингибирование фитатом кристаллизации не зависело от снижения концентрации ионизированного кальция, а угнетение роста конкрементов не было связано с подавлением кристаллизации.

Как бы то ни было, ингибирующее действие фитиновой кислоты и ее солей на развитие кальциевого нефролитиаза представляется весьма интересным и перспективным и нуждается в глубоком и всестороннем изучении в ближайшем будущем в условиях многоцентровых рандомизированных испытаний.

В 60-х годах прошлого века появились первые сообщения о благоприятном эффекте пирофосфата при кальциевом нефролитиазе [90]. Как известно, пирофосфат является продуктом гидролиза АТФ при участии нуклеозид трифосфат дифосфогидролазы (NTPD) или нуклеозид пирофосфат фосфодиэстеразы (NPP) и играет ключевую роль в контроле за костной минерализацией, ослабляя процесс отложения гидроксилапатита в костях [91]. Поэтому естественным выглядело предположение о возможности аналогичного действия пирофосфата и в почках [90,92]. И действительно, уже первые клинические наблюдения показали, что в группе из 107 пациентов с рецидивирующим кальцием нефролитиазом 48% имели сниженное содержание пирофосфата в моче [93]. В ряде других клинических исследований также было выявлено уменьшение мочевой экскреции пирофосфата у пациентов с кальциевыми камнями [94-96].

Прямые эксперименты *in vitro* подтвердили, что пирофосфат ингибирует кристаллизацию за счет связывания с поверхностью кристаллов фосфата кальция и подавления посредством этого их дальнейшего роста [97-99]. Одновременно было установлено, что ингибирующее действие пирофосфата проявляется при мочевых концентрациях, близких к естественным, сопоставимо с эффектом других ингибиторов кристаллизации и проявляет синергизм с цитратом [98-100].

Параллельно выяснялся вопрос об источниках происхождения пирофосфата в дистальных отделах нефрона, где осуществляется его воздействие на кристаллизацию апатитов. Дело в том, что практически весь пирофосфат, попадающий в проксимальный почечный каналец в результате фильтрации в клубочке, гидролизует до неорганического фосфата присутствующими здесь щелочными фосфатазами [91,101]. Поэтому важным событием явилось установление факта синтеза пирофосфата в пределах дистальных отделов нефрона, где был обнаружен весь набор ферментов, обеспечивающих гидролиз АТФ с образованием пирофосфата. Здесь же был идентифицирован переносчик ANK (progressive ankylosis protein), аналогичный протеину, осуществляющему транспорт пирофосфата в костной ткани [102-106]. Примечательно, что в экспериментах на мышах показано, что му-

тация гена ank не только нарушает процесс минерализации скелета, но также обуславливает почечную кальцификацию [107].

Сходные результаты были получены и при использовании бифосфонатов. Бифосфонаты являются синтетическими аналогами эндогенного пирофосфата, которые применяются преимущественно с целью подавления костной резорбции. Использование в нефрологической клинике одного из бифосфонатов натрия алендроната в лечении рецидивирующего нефролитиаза, сочетающегося с гиперкальциемией и сопутствующей потерей костной массы, показало неплохую терапевтическую эффективность [108]. На фоне хорошей толерантности и отсутствия серьезных побочных эффектов у 76% пациентов развивалась ремиссия, а у оставшихся 24% снижалась активность образования почечных камней. Ранее обнадеживающие результаты были получены у животных. На модели генетически детерминированной гиперкальциемии у крыс применение алендроната на фоне низко-кальциевой диеты приводило к значительному уменьшению экскреции Ca^{2+} и снижению пересыщения мочи оксалатом кальция и брусшитом [109].

Таким образом, получены весьма обнадеживающие результаты использования пирофосфата и его аналогов в лечении кальциевого нефролитиаза, в первую очередь – при апатитных камнях. По мнению многих исследователей, как и в случае с фитатом, эти данные нуждаются в подтверждении в условиях серьезных многоцентровых рандомизированных испытаний [91,108,109].

Подводя итоги данного обзора, который мы рассматриваем как первый в цикле аналитических материалов, посвященных проблеме мочекаменной болезни, отметим, что физико-химические факторы сохраняют важное значение в патогенезе кальциевого нефролитиаза. Воздействие на эти факторы, в том числе и с помощью природных ингибиторов кристаллизации, является сегодня одним из эффективных методов профилактики рецидивов мочекаменной болезни.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hess B. Pathophysiology, diagnosis and conservative therapy in calcium kidney calculi. *Ther Umsch* 2003; 60 (2): 79-87
2. Reynolds TM. Chemical pathology, clinical investigation and management of nephrolithiasis. *J Clin Pathol* 2005; 58 (2): 134-140
3. Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. Питер, СПб., 2000; 53-91
4. Кадыров ЗА, Истратов ВГ, Сулейманов СИ. Некоторые вопросы этиологии и патогенеза мочекаменной болезни. *Урология* 2006; (5): 98-101
5. Heilberg IP, Schor N. Renal stone disease: causes, evaluation and medical treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50 (4): 823-831

6. Lingeman J, Kahnoski R, Mardis H et al. Divergence between stone composition and urine supersaturation: clinical and laboratory implications. *J Urol* 1999; 161 (4): 1077-1081
7. Pak CY. Physicochemical basis for formation of renal stones of calcium phosphate origin: calculation of the degree of saturation of urine with respect to brushite. *J Clin Invest* 1969; 48 (10): 1914-1922
8. Pak CY, Holt K. Nucleation and growth of brushite and calcium oxalate in urine of stone-formers. *Metabolism* 1976; 25 (6): 665-673
9. Brown CM, Purich DL. Physical-chemical processes in kidney stone formation. In: Coe FL, Favus MJ, eds. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York, 1992; 613-624
10. Asplin JR, Bushinsky DA, Singharetnam W et al. Relationship between supersaturation and crystal inhibition in hypercalciuric rats. *Kidney Int* 1997; 51 (3): 640-645
11. Niccar MJ, Hill K, Pak CY. A simple technique for assessing the propensity for crystallization of calcium oxalate and brushite in urine from the increment in oxalate or calcium necessary to elicit precipitation. *Metabolism* 1983; 32 (9): 906-910
12. Bushinsky DA, Parker WR, Asplin JR. Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2000; 57: 550-560
13. Tiselius HG. Estimated levels of supersaturation with calcium phosphate and calcium oxalate in the distal tubule. *Urol Res* 1997; 25 (2): 153-159
14. Toblli JE, Angerosa M, Stella I et al. Urinary calcium oxalate supersaturation beyond nephrolithiasis. Relationship with tubulointerstitial damage. *Medicina (B. Aires)* 2003; 63 (2): 97-104
15. Robertson WG. Kidney models of calcium oxalate stone formation. *Nephron Physiol* 2004; 98 (2): 21-30
16. Pak CY, Eanes ED, Puskin B. Spontaneous precipitation of brushite in urine: evidence that brushite is the nidus of renal stones originating as calcium phosphate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68 (7): 1456-1460
17. Finlayson B. Physicochemical aspects of urolithiasis. *Kidney Int* 1978; 13 (5): 344-360
18. Carvalho M, Vieira MA. Changes in calcium oxalate crystal morphology as a function of supersaturation. *Int Braz J Urol* 2004; 30 (3): 205-209
19. Burns JR, Finlayson B. Changes in calcium oxalate morphology as function of concentration. *Invest Urol* 1980; 18 (2): 174-177
20. Parks JH, Coward M, Coe FL. Correspondence between stone composition and urine supersaturation in nephrolithiasis. *Kidney Int* 1997; 51 (3): 894-900
21. Asplin JR, Parks J, Lingeman J et al. Supersaturation and stone composition in a network of dispersed treatment sites. *J Urol* 1998; 159 (6): 1821-1825
22. Pak CY, Galosy RA. Propensity for spontaneous nucleation of calcium oxalate. Quantitative assessment by urinary FPR-APR discriminant score. *Am J Med* 1980; 69 (5): 681-689
23. Bushinsky DA, Asplin JR, Grynblas MD et al. Calcium oxalate stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2002; 61 (3): 975-987
24. Asplin JR, Parks JH, Coe FL. Dependence of upper limit of metastability on supersaturation in nephrolithiasis. *Kidney Int* 1997; 52 (6): 1602-1608
25. Bushinsky DA. Nephrolithiasis: site of the initial solid phase. *J Clin Invest* 2003; 111 (5): 602-605
26. Asplin JR, Parks JH, Chen MS et al. Reduced crystallization inhibition by urine from men with nephrolithiasis. *Kidney Int* 1999; 56: 1505-1516
27. Asplin JR, Parks JH, Nakagawa Y, Coe FL. Reduced crystallization inhibition by urine from women with nephrolithiasis. *Kidney Int* 2002; 61: 1821-1829
28. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Талалаева ОС и др. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (1): 58-63
29. Брюханов ВМ, Зверев ЯФ, Лампатов ВВ и др. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (1): 69-74
30. Borghi L, Guerra A, Meschi T et al. Relationship between supersaturation and calcium oxalate crystallization in normals and idiopathic calcium oxalate stone formers. *Kidney Int* 1999; 55: 1041-1050
31. Borghi L, Meschi T, Amato F et al. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *J Urol* 1996; 155 (3): 839-843
32. Bellizzi V, De Nicola L, Minutolo R et al. Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis. *Nephron* 1999; 81 (1): 66-70
33. Borghi L, Meschi T, Schianchi T et al. Urine volume: stone risk factor and preventive measure. *Nephron* 1999; 81 (1): 31-37
34. Whitson PA, Pietrzyk RA, Morukov BV, Sams CF. The risk of renal stone formation during and after long duration space flight. *Nephron* 2001; 89 (3): 264-270
35. Pietrzyk RA, Jones JA, Sams CF, Whitson PA. Renal stone formation among astronauts. *Aviat Space Environ Med* 2007; 78 (4): A9-A13
36. Whitson PA, Pietrzyk RA, Sams CF. Urine volume and its effects on renal stone risk in astronauts. *Aviat Space Environ Med* 2001; 72 (4): 368-372
37. Guerra A, Allegri F, Meschi T et al. Effects of urine dilution on quantity, size and aggregation of calcium oxalate crystals induced in vitro by an oxalate load. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43 (6): 585-589
38. Guerra A, Meschi T, Allegri F et al. Concentrated urine and diluted urine: the effects of citrate and magnesium on the crystallization of calcium oxalate induced in vitro by an oxalate load. *Urol Res* 2006; 34 (6): 359-364
39. Parks JH, Goldfischer ER, Coe FL. Changes in urine volume accomplished by physicians treating nephrolithiasis. *J Urol* 2003; 169 (3): 863-866
40. Stitchantrakul W, Kochakarn W, Ruangraksa C, Domrangkitchaiporn S. Urinary risk factors for recurrent calcium stone formation in Thai stone formers. *J Med Assoc Thai* 2007; 90 (4): 688-698
41. Ratan SK, Bhatnagar V, Mitra DK et al. Urinary citrate excretion in idiopathic nephrolithiasis. *Indian Pediatrics* 2002; 39: 819-825
42. Tiselius HG, Berg C, Fornander AM, Nilsson MA. Effects of citrate on the different phases of calcium oxalate crystallization. *Scanning Microsc* 1993; 7 (1): 381-389
43. Pak CY, Poindexter JR, Adams-Huet B, Pearle MS. Predictive value of kidney stone composition in the detection of metabolic abnormalities. *Am J Med* 2003; 115 (1): 26-32
44. Domrangkitchaiporn S, Stitchantrakul W, Kochakarn W. Causes of hypocitraturia in recurrent calcium stone formers: focusing on urinary potassium excretion. *Am J Kidney Dis* 2006; 48 (4): 546-554
45. Chow K, Dixon J, Gilpin S et al. Citrate inhibits growth of residual fragments in an in vitro model of calcium oxalate renal stones. *Kidney Int* 2004; 65 (5): 1724-1730
46. Hess B, Jordi S, Zipperle L et al. Citrate determines calcium oxalate crystallization kinetics and crystal morphology-studies in the presence of Tamm-Horsfall protein of a healthy subject and a severely recurrent calcium stone former. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (3): 366-374
47. Schwille PO, Schmied A, Manoharan M. Is calcium oxalate nucleation in postprandial urine of males with idiopathic recurrent calcium urolithiasis related to calcium phosphate nucleation and the intensity of stone formation? Studies allowing insight into a possible role of urinary free citrate and protein. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42 (3): 283-293
48. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. Impact of various modifiers on calcium oxalate crystallization. *Int J Urol* 2007; 14 (3): 214-218
49. Huijgaard I, Tiselius HG. The effects of citrate and urinary macromolecules on the aggregation of hydroxyapatite crystals in solutions with a composition similar to that in the distal tubule. *Urol Res* 1998; 26 (2): 89-95

50. Greischar A, Nakagawa Y, Coe FL. Influence of urine pH and citrate concentration on the upper limit of metastability for calcium phosphate. *J Urol* 2003; 169 (3): 867-870
51. Messa P, Mioni G, Paganin L et al. Urinary citrate, bone resorption and intestinal alkali absorption in stone formers with fasting hypercalciuria. *Scanning Microsc* 1994; 8 (3): 531-538
52. Berg C. Alkaline citrate in prevention of recurrent calcium oxalate stones. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1990; 130: 1-83
53. Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 2005; 115 (10): 2598-2608
54. Hassani MA, Hennequin C, Lacour B, Daudon M. Influence of urinary citrate levels on spontaneous calcium oxalate dehydrate crystalluria. *Prog Urol* 2005; 15 (4): 650-655
55. Kok DJ, Papapoulos SE, Blomen LJM, Bijvoet OLM. Modulation of calcium oxalate monohydrate crystallization kinetics in vitro. *Kidney Int* 1988; 34: 346-350
56. Hennequin C, Lalanne V, Druke T et al. Validation by image analysis of a turbidimetric method to study calcium oxalate crystallization. *Clin Nephrol* 1997; 48: 292-299
57. Byer K, Khan SR. Citrate provides protection against oxalate and calcium oxalate crystal induced oxidative damage to renal epithelium. *J Urol* 2005; 173 (2): 640-646
58. Weber DV, Coe FL, Parks JH, Tembe V. Urinary saturation measurements in calcium nephrolithiasis. *Am Int Med* 1979; 90: 180-184
59. Hamm LL, Hering-Smith KS. Pathophysiology of hypocitraturic nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2002; 31 (4): 885-893
60. Allie-Hamdulay S, Rodgers A. Prophylactic and therapeutic properties of a sodium citrate preparation for the potential management of calcium oxalate urolithiasis: randomized, placebo-controlled trial. *Urol Res* 2005; 33: 116-124
61. Rodgers A, Allie-Hamdulay S, Jackson G. Therapeutic action of citrate in urolithiasis explained by chemical speciation: increase in pH is the determinant factor. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (2): 361-369
62. Qiu SR, Wierzbicki A, Orme CA et al. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization by osteopontin and citrate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (7): 1811-1815
63. Qiu SR, Wierzbicki A, Salter EA et al. Modulation of calcium oxalate monohydrate crystallization by citrate through selective binding to atomic steps. *J Am Chem Soc* 2005; 127 (25): 9036-9044
64. De Yoreo JJ, Qiu SR, Hoyer JR. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291 (6): F1123-F1131
65. Cupisti A, Morelli E, Lupetti S et al. Low urine citrate excretion as main risk factor for recurrent calcium oxalate nephrolithiasis in males. *Nephron* 1992; 61: 73-76
66. Yagisawa T, Chandhoke PS, Fan J. Metabolic risk factors in patients with first-time and recurrent stone formations as determined by comprehensive metabolic evaluation. *Urology* 1998; 52: 750-755
67. Fegan J, Khan SR, Poindexter J, Pak CY. Gastrointestinal citrate absorption in nephrolithiasis. *J Urol* 1992; 147: 1212-1214
68. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int* 1990; 38: 728-735
69. Pajor CY. Citrate transport by the kidney and intestine. *Semin Nephrol* 1999; 19: 195-200
70. He Y, Chen X, Yu Z et al. Sodium dicarboxylate cotransporter-1 expression in renal tissues and its role in rat experimental nephrolithiasis. *J Nephrol (JN)* 2004; 17 (1): 34-42
71. Okamoto N, Aruda S, Matsuzaki S et al. Association between renal sodium-citrate cotransporter (hNaDC-1) gene polymorphism and urinary citrate excretion in recurrent renal calcium stone formers and normal controls. *Int J Urol* 2007; 14 (4): 344-349
72. Спасов АА. Магний в медицинской практике. Отрок, Волгоград, 2006; 34-56
73. Labeeuw M, Pozet N, Zech P, Traeger J. Role of magnesium in the physiopathology and treatment of calcium renal lithiasis. *Presse Med* 1987; 16 (1): 25-27
74. Johansson G, Backman U, Danielson BG et al. Effects of magnesium hydroxide in renal stone disease. *J Am Cell Nutr* 1982; 1 (2): 179-185
75. Vagelli G, Calabrese G, Pratesi G et al. Magnesium hydroxide in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Minerva Urol Nefrol* 1998; 50 (1): 113-114
76. Rushton HG, Spector M. Effects of magnesium deficiency on intratubular calcium oxalate formation and crystalluria in hyperoxaluric rats. *J Urol* 1982; 127 (3): 598-604
77. Спасов АА, Иежица ИИ, Харитонова МВ и др. Экспериментальное обоснование эффективности солей магния в коррекции экспериментального кальций-фосфатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (3): 72-78
78. Lieske JC, Farrell G, Deganello S. The effect of ions at the surface of calcium oxalate monohydrate crystals on cell-crystal interactions. *Urol Res* 2004; 32 (2): 117-123
79. Fetner CD, Barilla DE, Townsend J, Pak CY. Effects of magnesium oxide on the crystallization of calcium salts in urine in patients with recurrent nephrolithiasis. *J Urol* 1978; 120 (4): 399-401
80. Schwartz BF, Bruce J, Lesile S, Stoller ML. Rethinking the role of urinary magnesium in calcium urolithiasis. *J Endourol* 2001; 15 (3): 233-235
81. Massey L. Magnesium therapy for nephrolithiasis. *Magnesium Res* 2005; 18 (2): 123-126
82. Schwille PO, Schmiedl A, Herrmann U et al. Magnesium, citrate, magnesium citrate and magnesium-alkali citrate as modulators of calcium oxalate crystallization in urine: observations in patients with recurrent idiopathic calcium urolithiasis. *Urol Res* 1999; 27 (2): 117-126
83. Jaipakdu S, Prasongwatana V, Premgamone A et al. The effects of potassium and magnesium supplementations on urinary risk factors of renal stone patients. *J Med Assoc Thai* 2004; 87 (3): 255-263
84. Zerwekh JE, Odvina CV, Wuermser LA, Pak CY. Reduction of renal stone risk by potassium-magnesium citrate during 5 weeks of bed rest. *J Urol* 2007; 177 (6): 2179-2184
85. Grases F, Costa-Bauza A. Phytate (IP6) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Res* 1999; 19 (5A): 3717-3722
86. Grases F, March JG, Prieto RM et al. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people-dietary effects on phytate excretion. *Scand J Urol Nephrol* 2000; 34 (3): 162-164
87. Grases F, Garcia-Gonzalez R, Torres JJ, Llobera A. Effects of phytic acid on renal stone formation in rats. *Scand J Urol Nephrol* 1998; 32 (4): 261-265
88. Grases F, Isern B, Sanchis P et al. Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Front Biosci* 2007; 12: 2580-2587
89. Saw NK, Chow K, Rao PN, Kavanagh JP. Effects of inositol hexaphosphate (phytate) on calcium binding, calcium oxalate crystallization and in vitro stone growth. *J Urol* 2007; 177 (6): 2366-2370
90. Fleisch H, Bisaz S. Isolation from urine of pyrophosphate, a calcification inhibitor. *Am J Physiol* 1962; 203: 671-675
91. Mochhala SH, Sayer JA, Carr G, Simmons NL. Renal calcium stones: insights from the control of bone mineralization. *Exp Physiol* 2008; 93 (1): 43-49
92. Russell RG. Metabolism of inorganic pyrophosphate (PPi). *Arthritis Rheum* 1976; 19 (3): 465-478
93. Laminski NA, Meyers AM, Sonnekus MI, Smyth AE. Prevalence of hypocitraturia and hypopyrophosphaturia in recurrent calcium stone formers: as isolated defects or associated with other metabolic abnormalities. *Nephron* 1990; 56: 379-386
94. Baumann JM, Bisaz S, Felix R et al. The role of inhibitors and other factors in the pathogenesis of recurrent calcium-containing renal stones. *Clin Sci Mol Med* 1977; 53: 141-148

95. Wikstrom B, Danielson BG, Ljunghall S et al. Urinary pyrophosphate excretion in renal stone formers with normal and impaired renal acidification. *World J Urol* 1983; 1: 150-154
96. Roberts NB, Dutton J, Helliwell T et al. Pyrophosphate in synovial fluid and urine and its relationship to urinary risk factors for stone disease. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 529-534
97. Jung A, Bisaz S, Fleisch H. The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystals. *Calcif Tissue Res* 1973; 11: 269-280
98. Grases F, Ramis M, Costa-Bauza A. Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urol Res* 2000; 28 (2): 136-140
99. March JG, Simonet BM, Grases F. Determination of pyrophosphate in renal calculi and urine by means of an enzymatic method. *Clin Chim Acta* 2001; 314: 187-194
100. Costa-Bauza A, Barcelo C, Perello J, Grases F. Synergism between the brushite and hydroxyapatite urinary crystallization inhibitors. *Int Urol Nephrol* 2002; 34: 447-451
101. Nouwen EJ, De Broe ME. Human intestinal versus tissue-nonspecific alkaline phosphatase as complementary urinary markers for the proximal tubule. *Kidney Int Suppl* 1994; 47: S43-S51
102. Harahap AR, Goding JW. Distribution of the murine plasma cell antigen PC-1 in non-lymphoid tissues. *J Immunol* 1988; 141: 2317-2320
103. Goding JW, Grobden B, Slegers H. Physiological and pathophysiological functions of the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1638: 1-19
104. Vekaria RM, Shirley DG, Sevigny J, Unwin RJ. Immunolocalization of ectonucleotidases along the rat nephron. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F550-F560
105. Vekaria RM, Unwin RJ, Shirley DG. Intraluminal ATP concentrations in rat renal tubules. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1841-1847
106. Carr G, Sayer JA, Simmons NL. Expression and localization of the pyrophosphate transporter, ANK, in murine kidney cells. *Cell Physiol Biochem* 2007; 20: 507-516
107. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science* 2000; 289: 265-270
108. Arrabal MM, Diaz de la Guardia FV, Jimenez PA et al. The treatment of renal lithiasis with biphosphonates. *Arch Esp Urol* 2007; 60 (7): 745-754
109. Bushinsky DA, Neumann KJ, Asplin J, Krieger NS. Alendronate decreases urine calcium and supersaturation in genetic hypercalciuric rats. *Kidney Int* 1999; 55 (1): 234-243

Поступила в редакцию 22.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.