Методические подходы к выявлению механизмов развития гипер- и гипокальциемии после аллотрансплантации почки

И.Э. Бородулин, И.А. Пронченко, Н.П. Шмерко, И.П. Ермакова
ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени акад. В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ

Methods of approach to elucidation of calcium homeostasis failure mechanisms after kidney transplantation

I.E. Borodulin, I.A. Pronchenko, N.P. Shmerko, I.P. Yermakova
Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

Ключевые слова: *гипокальциемия, гиперкальциемия, канальцевая реабсорбция кальция, аллотрансплантация трупной почки.*

Изучено влияние почечной канальцевой реабсорбции кальция (ПКРК) на его гомеостаз в условиях гиперкальциемии, вызванной внутривенным капельным введением глюконата кальция у 28 здоровых добровольцев, а также в условиях гиперкальциемии натощак у 36 реципиентов аллотрансплантированной почки (АТП) [10 на фоне трех- (циклоспорин А, преднизолон и азатиоприн), 26 – на фоне двухкомпонентной (преднизолон и азатиоприн) иммуносупрессии] и у 17 в условиях гипокальциемии на фоне двухкомпонентной иммуносупрессии. О состоянии ПКРК судили по показателю CaR/GFR [реабсорбция кальция (Ca) из 1 л клубочкового фильтрата], который рассчитывался как ультрафильтруемый Ca (CaUF) минус экскреция Ca из 1 л клубочкового фильтрата (CaE/GFR), а также T-score CaR/GFR, представляющему собой разность между CaR/GFR у исследуемого и средним арифметическим значением CaR/GFR у здоровых при данном значении CaUF, нормализованном на среднеквадратическое отклонение у здоровых людей. Выявлено, что способ определения ПКРК, основанный на вычислении T-score CaR/GFR, адекватно отражает ее состояние в условиях нарушения гомеостаза Ca. У 22 реципиентов гиперкальциемия и у всех реципиентов гипокальциемия вызваны внепочечными причинами. У 8 реципиентов на трех- и у 14 – на двухкомпонентной иммуносупрессии гиперкальциемия явилась следствием сочетания усиления ПКРК и повышенного поступления Ca в кровь из тканей.

The influence of renal tubular calcium reabsorption on calcium homeostasis was studied in 28 healthy volunteers with normo- and hypercalcaemia (during v/v calcium gluconate infusion), 36 kidney allograft recipients with fasting hypercalcaemia (10 of them where treated by cyclosporine A, prednisolone and azathyoprine, 26 – with prednisolone and azathyoprine) and 17 kidney allograft recipients with fast hypocalcaemia, treated by prednisolone and azathyoprine. Calcium reabsorption was calculated by CaR/GFR (CaUF – CaE/GFR) and T-score CaR/GFR (the difference between CaR/GFR in the recipient and healthy persons at the same CaUF normalized for its standard deviation in healthy people). It was revealed that hypercalcemia in 8 recipients in triple and in 14 recipients in double-component immunosuppression was caused by a combination of increased tubular calcium reabsorption with elevated calcium flow from tissues to blood. In others recipients hypercalcemia resulted from extrarenal reasons.

Key words: *hypocalcaemia, hypercalcaemia, renal calcium reabsorption, kidney transplantation.*

Введение

После аллотрансплантации почки (АТП) часто развивается гиперкальциемия, реже – гипокальциемия [1, 3, 4], следствием которых являются соответственно кальцификация сосудов, гипо- и гиперпаратиреоз и другие осложнения. Почечная канальцевая реабсорбция кальция (Ca) – один из основных механизмов регуляции его гомеостаза в человеческом организме. В случае возникновения гипер- или гипокальциемии очень важно выяснить, были ли вызваны отклонения в гомеостазе Ca соответственно усилением или снижением его реабсорбции или же обусловлены изменениями поступления Ca в кровь из тканей и/или кишечника. В настоящее время общепринятым методом количественного определения реабсорбции Ca является измерение его фракционной экскреции (CCa/GFR). Однако этот метод надежен только в условиях нормокальциемии. В случае повышения или снижения ионизированного и ультрафильтруемого Ca показатель CCa/GFR неадекватно отражает состояние его реабсорбции. Предложенные методы количественного измерения реабсорбции Ca в условиях нарушения его гомеостаза в патологии [7] не получили ши-

Адрес для переписки: *123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1*
Телефон: *8 (499) 190-77-07*
E-mail: *lab_transpl_nii@mail.ru*

рокого применения. Поэтому актуальна разработка методов выявления механизмов этих отклонений с целью выбора способа их коррекции.

Целью настоящей работы явилась разработка нового метода количественной оценки реабсорбции Ca в условиях гипер- и гипокальциемии и применение его у реципиентов АТП.

Задачи работы: 1) разработка у человека номограммы зависимости ультрафильтруемого Ca от его реабсорбции с доверительными интервалами 95%; 2) разработка на основе полученной номограммы критериев количественной оценки общей реабсорбции Ca в условиях гипер- и гипокальциемии; 3) анализ состояния реабсорбции Ca при гипер- и гипокальциемии у реципиентов АТП на фоне двух- и трехкомпонентной иммуносупрессии; 4) дифференциальная диагностика механизмов нарушений гомеостаза Ca после АТП.

Материалы и методы

Состояние реабсорбции Ca исследовано натощак у 28 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 50 лет, у 36 реципиентов АТП в возрасте от 20 до 57 лет на фоне удовлетворительной функции почечного трансплантата, у которых была отмечена гиперкальциемия, при этом 10 из них находились на трехкомпонентной (циклоспорин А, преднизолон и азатиоприн) и 26 – на двухкомпонентной (преднизолон и азатиоприн) иммуносупрессии, а также у 17 реципиентов АТП на фоне двухкомпонентной иммуносупрессии, у которых наблюдалась гипокальциемия. При трехкомпонентной иммуносупрессии гипокальциемии обнаружено не было. И здоровые, и реципиенты АТП были обследованы на фоне низкокальциевой диеты, которую они соблюдали в течение двух дней перед забором крови и сбором двух утренних часовых порций мочи. Для решения вопроса, связана ли гиперкальциемия после АТП с усилением канальцевой реабсорбции Ca или возникала вследствие усиления поступления Ca из кости, реабсорбция Ca была также исследована у 8 здоровых добровольцев в условиях внутривенного введения глюконата Ca в течение 3–4 часов с забором крови и мочи в 30-минутные интервалы. Ультрафильтрат сыворотки крови получали анаэробно путем насыщения плазмы крови 5% карбогеном на тонометре IL-237 фирмы Instrumentation Laboratory (США) с последующим анаэробным заполнением фильтра Amicon в специальной конусной пробирке, дальнейшим ее центрифугированием при 3000 оборотах в минуту в течение 20 минут и сравнением pH ретентата с pH крови плазмы после центрифугирования. При этом pH ретентата не должен был изменяться в процессе получения ультрафильтрата более чем на 0,02 по сравнению с капиллярной кровью [7]. Ca определяли в плазме крови, в ультрафильтрате плазмы крови (CaUF) и в моче методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии на аппарате IL-151 фирмы Instrumentation Laboratory (США), а креатинин в плазме крови и моче кинетически методом Jaffe на биохимическом анализаторе RA-2000 фирмы Technicon (США). О реабсорбции Ca судили по показателю CaR/GFR, который вычисляли путем вычитания из фильтрационного заряда Ca в 1 литре клубочкового фильтрата, численно равного CaUF, экскреции Ca из литра клубочкового фильтрата (CaR/GFR = CaUF – CaE/GFR). В качестве показателя, характеризующего клубочковую фильтрацию (GFR), использовали клиренс эндогенного креатинина (Ccr). У исследованных добровольцев и реципиентов АТП он составил 90,9 ± 10,8 и 59,4 ± 8,1 мл/мин соответственно, а концентрация креатинина в сыворотке крови – 0,1 ± 0,02 и 0,11 ± 0,02 ммоль /л. CaUF и CaR/GFR у здоровых добровольцев натощак составили соответственно 1,6 ± 0,25 и 1,46 ± 0,14 ммоль/л клубочкового фильтрата.

Статистическую обработку результатов производили с помощью программы SPSS-14(США).

Результаты и их обсуждение

Анализ данных, полученных нами у здоровых натощак и в условиях индуцированной гиперкальциемии, показал, что между канальцевой реабсорбцией Ca из 1 л клубочкового фильтрата (CaR/GFR) и фильтрационным зарядом Ca (совпадающим в цифровом выражении с концентрацией Ca в ультрафильтрате в ммоль/л – CaUF) наблюдается экспоненциальная корреляционная зависимость ($R = 0,88$; $Y_x = 2,3[1 – \exp(–x/1,61)]$). Выявленное нами у здоровых соотношение между CaR/GFR и CaUF совпало с данными у больных остеомаляцией и у здоровых добровольцев на фоне внутривенного капельного введения глюконата Ca, полученными другими авторами [7]. На основе собственных и литературных данных мы составили номограмму зависимости CaR/GFR от CaUF с доверительными интервалами (вероятность 95%) (рис. 1). Для количественной оценки состояния реабсорбции Ca мы воспользовались показателем T-score реабсорбции Ca (T-score CaR/GFR), представляющим собой кратность среднеквадратичных отклонений здоровых от разности между CaR/GFR у исследуемого и средним арифметическим значением CaR/GFR у здоровых при данном значении CaUF. T-score CaR/GFR у здоровых добровольцев составил 0,05 ± 0,65 с колебаниями от –1,2 до 1,73. Однако между CaUF и величиной T-score CaR/GFR у здоровых натощак наблюдалась прямая линейная зависимость ($RI = 0,55$; $p < 0,05$; $Y_x = 1,3 + 0,08x$), которая объяснялась физиологическими колебаниями в поступлении Ca в кровь из тканей. В то же время на фоне введения кальция такая зависимость у здоровых не выявлялась, поскольку T-score CaR/GFR был нормальным и гиперкальциемия являлась следствием исключительно повышенного экстраренального поступления Ca в кровь (рис. 2).

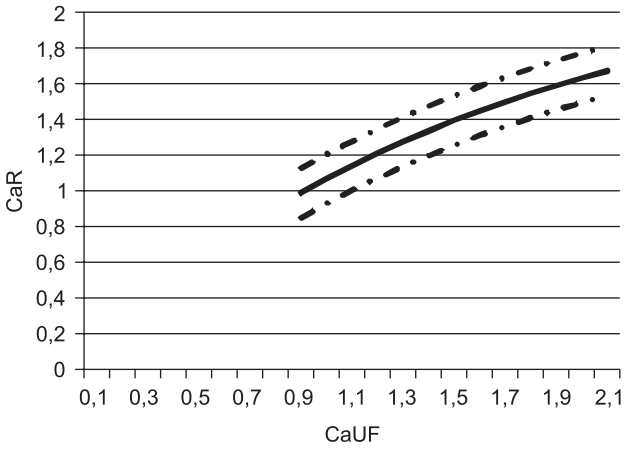


Рис. 1. Зависимость канальцевой реабсорбции кальция (CaR, ммоль/л клубочкового фильтрата) от его фильтрационного заряда (CaUF, ммоль/л) у здоровых добровольцев (доверительные интервалы с вероятностью 95%)

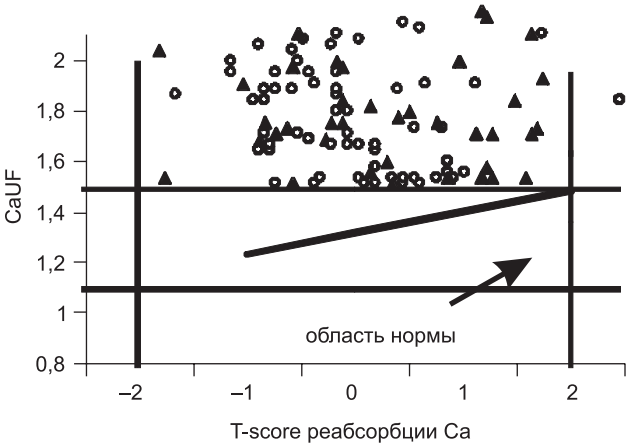


Рис. 2. Зависимость концентрации кальция в клубочковом ультрафильтрате (CaUF, ммоль/л) от состояния реабсорбции кальция (T-score CaR/GFR): сплошная линия – регрессия у здоровых добровольцев натощак; ▲ – у здоровых добровольцев на фоне в/в капельного введения глюконата кальция (данные настоящего исследования); О – у здоровых добровольцев на фоне в/в капельного введения глюконата кальция [7]

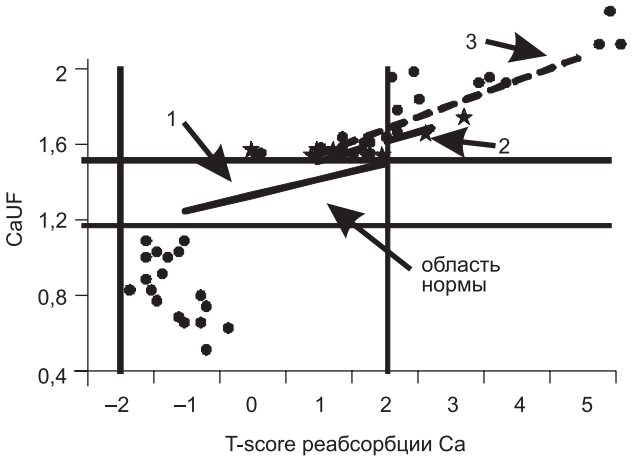


Рис. 3. Зависимость концентрации кальция в клубочковом ультрафильтрате (CaUF, ммоль/л) от состояния реабсорбции кальция (T-score CaR/GFR) при гипо- и гиперкальциемии у реципиентов аллотрансплантированной почки на фоне двух- (●) и трехкомпонентной иммуносупрессии (□). 1. Сплошная линия – здоровые добровольцы натощак. 2. Штрих-пунктирная линия – гиперкальциемия при трехкомпонентной иммуносупрессии. 3. Пунктирная линия – гиперкальциемия при двухкомпонентной иммуносупрессии

Проведенное исследование дало возможность количественной оценки состояния реабсорбции Ca у пациентов как с гипо-, так и с гиперкальциемией, а также позволило дифференцировать причины возникновения нарушений гомеостаза Ca. Гиперкальциемия при нормальной реабсорбции Ca свидетельствует об экстраренальных механизмах ее возникновения. Вместе с тем сочетание гиперкальциемии с увеличением T-score CaR/GFR указывает на связь гиперкальциемии с увеличением реабсорбции Ca. Так, если при значении CaUF 1,72 ммоль/л значение CaR/GFR составляет 1,54, то T-score CaR/GFR у этого больного равен 0,46, что говорит о нормальном состоянии реабсорбции Ca и позволяет сделать вывод, что гиперкальциемия у данного больного является следствием повышенного поступления Ca в кровь из тканей. При повышении же CaR/GFR до 1,7 при CaUF, равном 1,72 ммоль/л, T-score CaR/GFR составляет 2,73, и в этом случае причиной развития гиперкальциемии является, видимо, усиление реабсорбции Ca. Но если при таком же значении CaUF значение CaR/GFR составляет 1,65, то T-score CaR/GFR равен 2,02, что говорит об относительно небольшом увеличении реабсорбции Ca. В этом случае, по-видимому, гиперкальциемия является результатом сочетания ренальных и экстраренальных механизмов.

Гиперкальциемия после АТП при удовлетворительной функции трансплантата наблюдалась у 10 из 161 реципиента (6,2%) при трех- и у 26 из 214 реципиентов (12,1%) – при двухкомпонентной терапии. Частота гиперкальциемии не различалась при обоих видах иммуносупрессии (RI = 0,002, p > 0,1). Степень гиперкальциемии была умеренной (концентрация Ca в ультрафильтрате при гиперкальциемии на фоне трех- и двухкомпонентной терапии составила 1,56 ± 0,09 и 1,7 ± 0,21 ммоль/л соответственно). CaR/GFR при гиперкальциемии на фоне трехкомпонентной иммуносупрессии составила 1,54 ± 0,09 и на фоне двухкомпонентной иммуносупрессии – 1,65 ± 0,2 ммоль/л, то есть была в среднем умеренно повышена. T-score CaR/GFR оказался нормальным у 8 из 10 реципиентов АТП на фоне трех- и у 14 из 26 – на фоне двухкомпонентной терапии (рис. 3).

Таким образом, у большинства реципиентов АТП гиперкальциемия не была связана с усилением канальцевой реабсорбции Ca, а возникала вследствие повышенного поступления Ca в кровь, видимо, из скелета. У остальных реципиентов АТП CaUF был более высоким, что могло объясняться сочетанием усиления канальцевой реабсорбции Ca и повышенного экстраренального поступления Ca в кровь. В пользу этого предположения свидетельствует тесная корреляция между CaUF и T-score CaR/GFR как при трех-, так и при двухкомпонентной терапии с аналогичными коэффициентами регрессии, которые не отличались от таковых в группе здоровых (соответственно: RI = 0,8; $p < 0,01$; $Y_x = 1,4 + 0,1x$; RI = 0,8; $p < 0,01$; $Y_x = 1,4 + 0,13x$ и RI = 0,55; $p < 0,05$; $Y_x = 1,3 + 0,08x$). Вместе с тем свободные члены уравнений регрессии у реципиентов АТП были достоверно выше, чем у здоровых добровольцев ($p < 0,01$), следовательно, при одинаковом уровне реабсорбции Ca концентрация CaUF после АТП оказалась выше, чем в группе здоровых добровольцев. Таким образом, у части реципиентов АТП с умеренной степенью гиперкальциемии реабсорбция Ca была нормальной.

При исследовании состояния реабсорбции Ca у 17 реципиентов АТП, у которых была обнаружена гипокальциемия, выяснилось, что T-score CaR/GFR у них хотя и отличался от такового в группе здоровых (соответственно: –1,16 ± 0,28 и –0,05 ± 0,65; $p < 0,01$), но оставался в пределах нормы. Следовательно, гипокальциемия у реципиентов АТП была вызвана экстраренальными причинами. В условиях гипокальциемии у реципиентов АТП никакой корреляции между CaUF и CaR/GFR не выявлено (RI = 0,0).

Таким образом, анализ механизмов возникновения гипо- и гиперкальциемии у реципиентов АТП показал, что у всех больных с гипокальциемией, а также у 22 из 36 больных с гиперкальциемией (у 8 из 10 на трех- и у 14 из 26 – на двухкомпонентной иммуносупрессии) реабсорбция Ca (T-score CaR/GFR) остается нормальной. Лишь у пятой части реципиентов на трех- и у чуть менее половины реципиентов на

двухкомпонентной иммуносупрессии гиперкальциемия являлась следствием усиления канальцевой реабсорбции Ca.

Полученные нами данные о частоте гипо- и гиперкальциемии у реципиентов АТП согласуются с данными научной литературы. Гипокальциемия, как и в настоящем исследовании, выявлялась при двухкомпонентной терапии в 10–28% наблюдений [1, 3, 4, 8], а при трехкомпонентной или не была отмечена [1, 3, 5], или наблюдалась у единичных больных [4]. Вместе с тем гиперкальциемия была обнаружена с аналогичной частотой при двух- и трехкомпонентной иммуносупрессии [1, 3, 5].

Анализ причин гипо- и гиперкальциемии после АТП был проведен И.П. Ермаковой в 1990 г. [3]. Был применен метод оценки состояния почечной канальцевой реабсорбции Ca, предложенный Marshall в 1976 г. [7]. Метод состоит в следующем. Разработав номограмму зависимости CaE/GFR от CaUF, Marshall обратил внимание на то, что у многих исследуемых больных экскреция Ca в условиях гиперкальциемии остается такой же, как и при нормокальциемии, что свидетельствовало об усилении реабсорбции Ca. Для определения вклада усиления реабсорбции Ca в возникновение гиперкальциемии он предложил измерять показатель «дельта CaUF», позволяющий при экспериментальных значениях CaE/GFR вычислить разницу между измеренным значением CaUF у данного исследуемого и значением CaUF при данном значении экскреции Ca на номограмме. Сочетание увеличения CaUF с повышением CaE/GFR, как и на номограмме, по мнению Marshall, свидетельствовало о повышенном поступлении Ca из тканей, и разница в CaUF в этом случае (дельта CaUF) позволяла оценить вклад увеличенного поступления кальция из тканей в гиперкальциемию. Однако этот метод не получил широкого применения из-за того, что он не дает возможности количественного измерения реабсорбции Ca. Кроме того, на номограмме не были рассчитаны доверительные интервалы, и расчеты показателя «дельта CaUF» проводились от средней линии. К тому же этот метод не позволяет оценить состояние реабсорбции кальция при гипокальциемии. Другой метод, предложенный Marshall, заключающийся в определении максимальной реабсорбции Ca, не получил распространения из-за того, что ни одно экспериментальное исследование не подтвердило факта существования максимальной реабсорбции Ca. По данным И.П. Ермаковой, гиперкальциемия у реципиентов АТП возникала вследствие усиления реабсорбции Ca и его поступления из тканей, а гипокальциемия – исключительно из-за снижения реабсорбции Ca. И.Э. Бородулин [1] применил методический подход Marshall [7], но без количественной оценки вклада отклонений в канальцевой реабсорбции Ca в нарушения его гомеостаза. Он сделал вывод о связи гипо- и гиперкальциемии у реципиентов АТП как при двух-, так и при трехкомпонентной иммуносупрессии с колебаниями в состоянии канальцевой реабсорбции Ca. Предложенный нами в настоящей работе метод позволил по-новому количественно оценить состояние канальцевой реабсорбции Ca. У большинства реципиентов АТП гиперкальциемия связана с экстраренальными причинами (видимо, с повышенным поступлением Ca в кровь из костей) и лишь у части – с усилением почечной канальцевой реабсорбции Ca. Применение его как у реципиентов АТП, так и при других патологиях позволило установить, что гипокальциемия при остеомаляции [7] связана исключительно с экстраренальными механизмами, что не отличалось от прежних представлений (рис. 4).

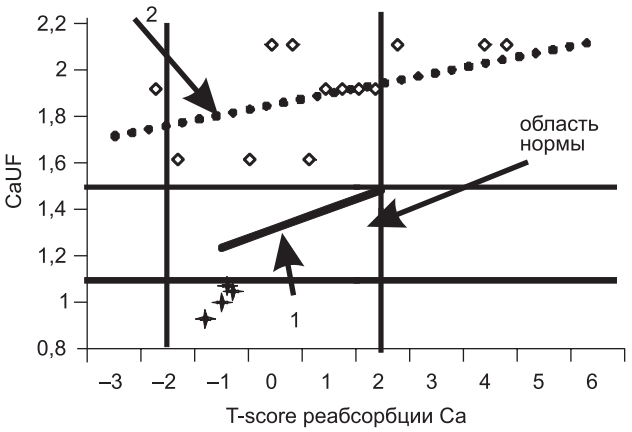


Рис. 4. Зависимость концентрации кальция в клубочковом ультрафильтрате (CaUF, ммоль/л) от состояния реабсорбции кальция (T-score CaR/GFR): ✦ – при гипокальциемии у больных с остеомаляцией [7], □ – при гиперкальциемии у онкологических больных [6]. 1. Сплошная линия – у здоровых добровольцев. 2. Пунктирная линия – у онкологических больных

По данным литературы, гиперкальциемия у большинства онкологических больных также обусловлена исключительно повышенным поступлением Ca из тканей и у меньшей части – и усилением реабсорбции Ca, и повышенным поступлением Ca в кровь из тканей [6]. Применение предложенного нами метода оценки реабсорбции Ca к литературным данным [6] показало, что у 77% онкологических больных реабсорбция Ca была нормальной, а у 23% – повышенной. Между CaUF и T-score CaR/GFR у онкологических больных, как и у реципиентов АТП, наблюдалась прямая достоверная корреляция (RI = 0,33; $p < 0,05$) с уравнением регрессии $Y_x = 1,85 + 0,045x$, в котором коэффициент регрессии достоверно не отличался от такового у реципиентов АТП, а свободный член был достоверно выше. Полученные данные свидетельствовали о более значительном поступлении Ca в кровь из тканей у онкологических больных, чем у реципиентов АТП.

Выводы

1. Метод определения реабсорбции Ca, основанный на вычислении показателя T-score CaR/GFR, адекватно отражает состояние реабсорбции Ca и позволяет дифференцировать связь гипо- и гиперкальциемии с нарушениями реабсорбции Ca и колебаниями в его поступлении из тканей.
2. У здоровых добровольцев при нормокальциемии, а также у реципиентов АТП в условиях гиперкальциемии наблюдается прямая достоверная корреляция между CaUF и T-score CaR/GFR.
3. Гипокальциемия у всех и гиперкальциемия у большинства реципиентов АТП обусловлены экстраренальными причинами.

Литература

1. *Бородулин И.Э.* Реабсорбция кальция, магния и фосфора после аллотрансплантации трупной почки // Дисс. … канд. мед. наук. М., 2008.

2. *Ермакова И.П., Пронченко И.А., Ушакова М.Д., Давудова М.Ш.* Роль почек и скелета в поддержании гомеостаза кальция после аллотрансплантации почки // Регуляция фосфорно-кальциевого обмена в норме и патологии. Сборник научных статей. Рига: РМИ, 1987. Р.

161–171.

3. *Ермакова И.П*. Гомеостаз кальция при терминальной почечной недостаточности и аллотрансплантации почки // Дисс. … докт. мед. наук. (в форме научного доклада). М., 1990.

4. *Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Томилина Н.А., Ермакова И.П*. Трансплантация почки // Трансплантология. Руководство / Под ред. В.И. Шумакова. М.: Медицина, Тула: Репроникс ЛТД, 1995. P. 203–208.

5. *Claesson K., Hellman P., Frodin L., Rastad J*. Prospective study of calcium homeostasis after renal transplantation // World Journal of Surgery. 1998. Vol. 22. P. 635–642.

6. *Harrink I.J., Bijvoett M.D. et al*. Role of bone and kidney in tumor-induced hypercalcemia and its treatment with bisphosphonate and sodium chloride // The American Journal of Medicine. 1987. Vol. 82. P. 1133–1142.

7. *Marshall D.H*. Calcium and phosphate kinetics // Calcium, phosphate and magnesium metabolism. Nordin B.E. C. & Peacock M., eds. New York. 1976. P. 290–294.

8. *Revusova V., Zvara V., Boroliova E*. Transient impairment of tubular reabsorption of calcium (TRCa) after renal transplantation // Int Urol Nephrol. 1985. Vol. 17. № 4. P. 359–363.

Получено 14.06.2010 – принято к печати 20.08.2010