

УДК 616.6-07

ДИАГНОСТИКА МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ МЕТОДОМ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

О.В. Красникова¹, О.В. Кондрашина¹, Д.П. Почтин², А.Р. Кондратьева¹,
П.М. Захарова¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Нижний Новгород, Россия

²ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко», г.
Нижний Новгород, Россия

Резюме. Данное исследование было направлено на изучение возможности применения инфракрасной спектроскопии крови для выявления вероятности развития мочекаменной болезни. Было продемонстрировано статистически достоверное различие параметров инфракрасных (ИК) спектров крови пациентов с мочекаменной болезнью и без нее ($p < 0,001$). Метод инфракрасной (ИК) спектроскопии является одним из потенциально эффективных методов диагностики мочекаменной болезни и позволяет выявить данное заболевание по анализу крови, в том числе на ранних сроках.

Ключевые слова: инфракрасная спектроскопия, сыворотка крови, диагностика, мочекаменная болезнь.

DIAGNOSIS OF UROLSTONE DISEASE BY THE METHOD OF INFRARED SPECTROSCOPY

O.V. Krasnikova¹, O.V. Kondrashina¹, D.P. Pochtin², A.R. Kondratieva¹,
P.M. Zakharova¹

¹Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

²Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital named after N.A.Semashko, Nizhny
Novgorod, Russia

Abstract. This study was aimed to estimate feasibility of using the method of infrared spectroscopy of blood serum in the diagnosis of the likelihood of urolithiasis. The calculated indices showed a statistically significant difference in the parameters of the infrared (IR) spectra of the blood serum of patients with urolithiasis and healthy people ($p < 0.001$). Infrared spectroscopy is a potentially effective method for diagnosing urolithiasis and makes it possible to detect this disease by blood tests, including in the early stages.

Keywords: infrared spectroscopy, blood serum, diagnostics, urolithiasis.

Введение. Частота встречаемости мочекаменной болезни (МКБ) во всем мире варьирует от 1% до 20% [1].

В России число впервые выявленных случаев МКБ на 100 000 населения за 12 лет возросло со 123,3 (2002 г.) до 150,3 (2014 г.) [11]. Причем регионы России, в которых показатели заболеваемости МКБ существенно выше средних по стране, – это Кавказ и Поволжье [15].

В настоящий период известны способы диагностики мочекаменной болезни путем исследования мочи с помощью физических и химических методов, которые позволяют диагностировать, а в дальнейшем оценивать риск развития и течения мочекаменной болезни [19, 2, 17]. Перспективным методом исследования в этой области, на наш взгляд, является ИК-спектроскопия сыворотки крови [8]. Данный метод уже нашел свое применение в диагностике различных патологических состояний и в экспериментальной медицине, одними из самых недавних и перспективных применений считаются диагностика стоматологической патологии и опухолей головного мозга [9, 13, 14, 16, 18].

Неорганические фосфаты, карбонаты, а также оксалаты, мочевую кислоту и ее соли, ксантин и цистин в крови можно рассматривать как диагностические маркеры мочекаменной болезни с целью оценки возможности образования камней мочевого пузыря разного химического состава: фосфатных, карбонатных, оксалатных, уратных и т.д. Методом ИК-спектроскопии крови определяются связи Р-О, С-О, С-О-С, NH и некоторые другие, соответствующие фосфатам, карбонатам, оксалатам, уратам, мочевой кислоте, ксантину, цистину. Установлено, что интервалы частот: $1100\text{--}1000\text{ см}^{-1}$, $1170\text{--}1140\text{ см}^{-1}$ соответствуют фосфат-ионам [10, 7, 20], частота поглощения с максимумом при $\approx 1080\text{ см}^{-1}$ характерна для карбонат-ионов [21], при $1124, 1029\text{ см}^{-1}$ – для ИК-спектров мочевой кислоты и ее солей (NH-связи) [3], а частоты поглощения с максимумами при $1075\text{--}1020\text{ см}^{-1}$ отвечают С-О-С оксалатов [10, 21].

Цель исследования: изучение возможности применения инфракрасной спектроскопии крови в выявлении вероятности развития мочекаменной болезни.

Материалы и методы. Исследование было проведено совместно на базе клиник кафедры урологии и кафедры общей химии Приволжского исследовательского медицинского университета.

При помощи метода ИК-спектроскопии исследовали сыворотку крови 20 здоровых добровольцев (контрольная группа) и 40 пациентов с установленным клиническим диагнозом «мочекаменная болезнь» (группа сравнения). Возраст участников исследования составил 51 ± 10 лет. Соотношение мужчин и женщин (%), включенных в данное исследование, составило 50:50.

Эксперимент проведен в соответствии с Хельсинкской декларацией, которая была принята в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия), пересмотрена в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия) и одобрена Этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета. Каждый пациент дал письменное согласие на участие в исследовании.

Забор крови из кубитальной вены для исследования осуществляли утром при поступлении больных в стационар. Объем крови, необходимый для исследования, – 5 мл. Кровь центрифугировали 15 мин с частотой 1000 об/мин. Полученную сыворотку крови в объеме 1,0 мл высушивали в сухожаровом шкафу при температуре 25°C в чашке Петри в течение суток. Сухой образец крови смешивали с вазелиновым маслом в ступке в количествах 0,002 г сыворотки и 2 капли масла до образования однородной консистенции. ИК-спектр сыворотки крови получали на оптическом спектрофотометре «Carl Zeiss JenaSPECORD IR-75» в диапазоне волновых чисел от 1200 до 1000 см^{-1} . Образец сыворотки крови исследовали в окнах ZnSe в виде жидких пленок.

Сначала измеряли высоты информативных пиков полос поглощения ИК-спектров сыворотки крови с максимумами при 1170, 1140, 1130, 1070, 1060, 1025 см^{-1} . Далее рассчитывали математические значения частных высот пиков полос поглощения ($\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$): П1 – 1170/1140 (содержание фосфатов); П2 – 1130/1025 (содержание мочевой кислоты); П3 – 1070/1060 (соотношение карбонатов и оксалатов) [12].

Математические данные по интенсивности поглощения ИК-излучения биологической жидкости обработали на IBM PC/AT пакетами прикладных программ Statistica-6.0 (Windows XP) и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики.

Результаты представили в виде $M\pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартное отклонение. Достоверность различий средних значений определяли по t- критерию Стьюдента. Выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p\leq 0,05$. Результаты исследования визуализировали для наглядности и удобства в виде диаграмм.

Результаты

В ходе математической обработки ИК-спектров сыворотки крови были получены значения спектральных параметров для группы пациентов с МКБ: $P_1 = 0,28 \pm 0,05$, $P_2 = 0,67 \pm 0,10$, $P_3 = 1,01 \pm 0,09$; для группы здоровых добровольцев – $P_1 = 0,11 \pm 0,04$, $P_2 = 1,00 \pm 0,20$, $P_3 = 0,85 \pm 0,03$.

В параметрах инфракрасных спектров крови пациентов с уролитиазом были выявлены повышение значений параметров 1 и 3 соответственно на 155% и 19% ($p \leq 0,001$) и достоверное снижение значения параметра 2 на 33% ($p \leq 0,001$).

На основании полученных и литературных данных можно говорить об изменении содержания фосфатов, уратов, оксалатов и карбонатов в сыворотке крови при МКБ. Такие варианты относительных количественных изменений веществ могут привести к ряду полезных выводов. Например, при использовании параметров P_1 , P_2 , P_3 можно сделать заключение о повышении содержания фосфатов, карбонатов, снижении оксалатов и мочевой кислоты в крови.

Максимальное повышение значения отмечено у параметра 1, отражающего изменение содержания в сыворотке крови фосфатов. Таким образом, можно говорить о резком повышении фосфат-ионов в крови при возникновении МКБ и сделать заключение о том, что в экспериментальной группе с МКБ преобладали пациенты именно с фосфатными мочевыми камнями. Но повышение значений остальных параметров ИК-спектров свидетельствует, во-первых, о сложном химическом неоднородном составе каждого камня, во-вторых, о том, что в экспериментальной группе с МКБ были пациенты не только с фосфатным типом мочевого камня, но и с оксалатными, уратными, карбонатными камнями и др. Таким образом, при изменении указанных параметров ИК-спектров сыворотки крови можно говорить о возникновении уролитиаза в организме.

Так, в работе [22] рассмотрено сходство слюнных сиалолитов и почечных фосфатных камней. Показано, что ИК-спектры таких камней имеют идентичные пики полос поглощения, а значит, и идентичный состав. У 43% пациентов со слюннокаменной болезнью выявлена МКБ. Таким образом, мочекаменная и слюннокаменная болезни являются не разными нозологическими формами поражения почек и слюнных желез, а представляют собой сложный процесс патогенного камнеобразования в организме человека, и определить вероятность возникновения МКБ при этом можно опосредованно.

Также в работе [4] проведен дифференциальный анализ мочевого камня, в том числе методом ИК-спектроскопии. Образование кристаллов мочевой кислоты также происходит и при подагре. Ключевым механизмом развития уролитиаза и подагрической нефропатии является обструкция почечных канальцев солями мочевой кислоты на фоне гиперурикемии. При биохимическом анализе крови больного подагрой происходит изменение концентрации мочевой кислоты, что привело бы к изменению только отдельного пика поглощения инфракрасного спектра сыворотки крови, а не всех 6 рассматриваемых полос поглощения.

Однако в работах некоторых ученых наличие уролитиаза отмечается у 20% больных подагрой в виде формы подагрической нефропатии [5,6], что свидетельствует об общем нарушении пуринового обмена в организме больного. Поэтому целесообразно проводить дополнительное исследование с целью поиска органа-мишени для исключения или выявления подагрической нефропатии после проведения ИК-спектроскопии сыворотки крови при выявленных изменениях значений параметров ИК-спектров крови.

Выводы. На основании данных исследования можно сделать вывод о том, что предлагаемый метод диагностики МКБ является весьма простым и объективным, позволяет с высокой точностью и достоверностью выявить у пациента развитие МКБ даже на ранних сроках.

Список литературы

1. Türk, A. Neisius, A. Petrik, C. Seitz, A. Skolarikos, A. Tepeler, K. Thomas. EAU Guidelines on Urolithiasis. European Association of Urology, 2017. 84 p. [Electronic resource]. URL: https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Urolithiasis_2017.

2. Munoz J.A., Lopez-Mesas M. A method for determining metabolites in urine by capillary electrophoresis. Valiente, M., Talanta. 2010. Vol. 81. P. 392.
3. Popescu G., Ionescu I., Grecu R., Preda A. The Use of Infrared Spectroscopy in the Investigation of Urolithiasis. Revista Română de Medicină de Laborator. 2010. Vol. 18 (4/4). P. 67-77.
4. Аляев Ю.Г., Ефимова Ю.А., Кузьмичева Г.М. Методы анализа состава и строения мочевых камней // Вестник МИТХТ. 2006. № 6. С. 87-99.
5. Анненков А.В., Авдошин В.П., Андрюхин М.И., Ибрафиллов М.Н. Оптимизация лечения мочекаменной болезни у больных подагрой, осложненной нефропатией // Вестник РУДН, серия Медицина. 2013. № 1. С. 89-93.
6. Аполихин О.И., Сивков А.В., Комарова В.А., Просьянников М.Ю., Голованов С.А., Казаченко А.В., Никушина А.А., Шадеркина В.А. Заболеваемость мочекаменной болезнью в Российской Федерации 2005 – 2016 годы // Экспериментальная и клиническая урология. 2018. № 4. С. 4-14.
7. Арзыкулов Ж.А. Клинико-спектрокопическая характеристика рака легкого. Алма-Ата: Ат КМН, 1990. С. 325.
8. Гордецов А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей // Современные технологии в медицине. 2010. № 1. С. 84-98.
9. Казарина Л.Н., Гордецов А.С., Сметанина О.А., Красникова О.В. Диагностика и профилактика гингивита с использованием метода инфракрасной спектроскопии биологических жидкостей полости рта // Вятский медицинский вестник. 2017. № 3 (55). С. 99-102.
10. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии: учеб. пособие для вузов. М.: Высш.школа, 1971. 264 с.
11. Каприн А.Д., Аполихин О.И., Сивков А.В., Солнцева Т.В., Комарова В.А. Анализ уронефрологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации за период 2002-2014 гг. по данным официальной статистики // Экспериментальная и клиническая урология. 2016. № 3. С. 4-13.
12. Красникова О.В., Гордецов А.С., Бояринова Л.В., Стрельцова О.С., Почтин Д.П. Способ диагностики мочекаменной болезни // Патент РФ 2666948 от 13.09. 2018.
13. Красникова О.В., Гордецов А.С., Крылов В.Н. Изменение параметров ИК-спектров плазмы крови животных-опухоленосителей на фоне введения биологически активных добавок // Современные технологии в медицине. 2011. № 4. С. 18-21.
14. Красникова О.В., Рунова О.А., Гордецов А.С., Казарина Л.Н. Выявление раннего кариеса по параметрам инфракрасных спектров ротовой жидкости и кристаллохимического состава тканей зуба // Современные технологии в медицине. 2014. Т. 6. № 4. С. 112-115.
15. Пушкарь Д.Ю., Раснер П.И., Куприянов Ю.А., Мальцев Е.Г., Гуров Е.Ю., Умяров М.С., Сидоренков А.В. Мочекаменная болезнь // «РМЖ». 2014. № 17. С.14.
16. Сметанина О.А., Казарина Л.Н., Гордецов А.С., Красникова О.В. Ранняя диагностика хронического катарального гингивита с использованием метода инфракрасной спектроскопии биологических жидкостей полости рта // Эндодонтия Today. 2018. № 4. С. 60-63.
17. Способ диагностики мочекаменной болезни // Патент РФ №2484468, заявка №2011130877/15, от 22.07.2011.
18. Способ дифференциальной диагностики новообразований головного мозга // Патент РФ №2519151, заявка № 2013101333/15, от 10.01.2013.
19. Способ определения ионов оксалата в моче // Патент РФ №2410692, заявка №2009110588/15, от 23.03.2009.
20. Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений // Справочные материалы. М., 2012. С. 51.

21. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): учеб. для вузов. М.: Высшая школа. 2005. 615 с.

22. Чечина И.Н., Неймарк А.И., Неймарк Б.А. Патогенное минералообразование в почках ислонных железах // Экспериментальная и клиническая урология. 2010. № 4. С. 30-31.