

ПРИМЕНЕНИЕ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Гордещев А.С.¹, Красникова О.В.¹, Стрельцова О.С.¹, Почтин Д.П.², Крупин В.Н.¹, Бояринова Л.В.²

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, e-mail: lala-g@yandex.ru;

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

Цель исследования: изучение рациональности использования инфракрасной спектроскопии крови в выявлении вероятности развития мочекаменной болезни. Сыворотка крови 20 здоровых добровольцев и 40 пациентов с мочекаменной болезнью была исследована методом инфракрасной (ИК) спектроскопии. ИК-спектры высушенной сыворотки крови получали на спектрофотометре «Carl Zeiss Jena SPECORD IR-75» в диапазоне волновых чисел от 1200 до 1000 см⁻¹. Диагностическими параметрами служили частные от деления высот пиков полос поглощения ИК-спектров сыворотки крови (см⁻¹/см⁻¹): П₁ – 1170/1140; П₂ – 1130/1025; П₃ – 1070/1060. Полученные значения продемонстрировали статистически достоверное различие параметров ИК- спектров крови пациентов с мочекаменной болезнью и без нее (p<0,001). Математическая интерпретация полученных данных в виде лепестковых диаграмм, построенных по значениям отношений высот пиков полос поглощения ИК-спектров крови к диагностически значимым максимумам, позволила визуализировать ИК-профили и сделать математический расчет вероятности возникновения мочекаменной болезни не просто более достоверным и объективным, но и более наглядным. Метод 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.

APPLICATION OF INFRARED SPECTROSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF UROLITHIASIS

Gordetsov A.S.¹, Krasnikova O.V.¹, Streltsova O.S.¹, Pochtin D.P.², Krupin V.N.¹, Boyarinova L.V.²

¹Research Medical University, Nizhny Novgorod, e-mail: lala-g@yandex.ru;

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

Purpose of the study. Feasibility of using the method of infrared spectroscopy of blood serum in the diagnosis of the likelihood of urolithiasis. The blood serum of 30 healthy volunteers and 30 patients with urolithiasis was studied by infrared (IR) spectroscopy. IR spectra of dried blood serum were obtained on a Carl Zeiss Jena SPECORD IR-75 spectrophotometer (Germany) in the wavenumber range 1200–1000 cm⁻¹ in the form of liquid films in ZnSe windows. The ratios of the heights of the peaks of the absorption bands (cm⁻¹ / cm⁻¹) were taken as diagnostic parameters: P₁ – 1170/1140; P₂ – 1130/1025; P₃ – 1070/1060. **Results.** The calculated indices showed a statistically significant difference in the parameters of the IR spectra of the blood serum of patients with urolithiasis and healthy people (p<0.001). The presented radial diagrams, constructed taking into account the values of all the ratios of the heights of the absorption band peaks with diagnostically significant maxima, made it possible to visualize the IR profiles, making the diagnosis of urolithiasis not only more objective and reliable, but also more visual. **Conclusion.** 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.

Частота встречаемости мочекаменной болезни (МКБ) во всем мире варьирует от 1% до 20%. Так, например, в странах Европы уролитиаз выявлен у 4–5% населения [1]. Эпидемиологические данные России свидетельствуют о том, что распространенность и заболеваемость МКБ ежегодно неуклонно возрастают. В 2016 г. на основании статистических

данных Минздрава РФ среди взрослого населения было выявлено 866 742 случая МКБ, что составляет почти 6% от имеющихся болезней мочеполовой системы [2].

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.) [3]. Причем регионы России, в которых показатели заболеваемости МКБ существенно выше средних по стране, – это Кавказ и Поволжье [4].

Основа профилактики и метафилактики МКБ – это выявление пациентов, входящих в группы риска развития МКБ, а также комплекс мер для пациентов, которые уже получали лечение по поводу имеющейся мочекаменной болезни. По данным В.W. Turney с соавт. (2012), частота рецидивирования МКБ в интервале 5–10 лет достигает 50–75% [5]. Поэтому поиск эффективных способов диагностики для раннего выявления МКБ у пациентов, оценки риска ее возникновения и развития остается важнейшей задачей современной медицины в области урологии.

В настоящий период известны способы диагностики мочекаменной болезни путем исследования мочи с помощью физических и химических методов, которые позволяют диагностировать, а в дальнейшем оценить риск развития и течения мочекаменной болезни [6–8]. Перспективным методом исследования в этой области, на наш взгляд, является инфракрасная (ИК) спектроскопия сыворотки крови [9].

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 [10–12], частота поглощения с максимумом при $\approx 1080\text{ см}^{-1}$ характерна для карбонат-ионов [13], при $1124, 1029\text{ см}^{-1}$ – для ИК-спектров мочевой кислоты и ее солей (NH-связи) [14], а частоты поглощения с максимумами при $1075\text{--}1020\text{ см}^{-1}$ отвечают С-О-С оксалатов [10, 13].

Цель исследования: изучение рациональности использования инфракрасной спектроскопии крови в выявлении вероятности развития мочекаменной болезни.

Пациенты и методы. Проведено совместное исследование на базе клиник кафедры урологии и кафедры общей химии Приволжского исследовательского медицинского университета.

Методом 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 ПИМУ. 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, составляет 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 Jena SPECORD 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) [15].

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 исследования и их обсуждение. Получили математические расчеты по трем параметрам для каждой исследовательской группы: здоровых людей и больных с МКБ (табл.).

Динамика изменения параметров ИК-спектров сыворотки крови у больных с уролитиазом

	П ₁	П ₂	П ₃
Контрольная группа	0,11±0,04	1,00±0,20	0,85±0,03
Группа сравнения	0,28±0,05*	0,67±0,10*	1,01±0,09*

Примечание: * – различия достоверны с группой контроля ($p \leq 0,001$)

Результаты математической обработки представили в виде диаграмм, которые наглядно отображают изменения характеристик ИК-спектров крови при патологии (рис. 1).

Как видно на рисунке 1, в параметрах инфракрасных спектров крови пациентов с уролитиазом происходят следующие изменения:

- достоверное повышение значений параметров 1 и 3 соответственно на 155% и 19% ($p \leq 0,001$);
- достоверное снижение значения параметра 2 на 33% ($p \leq 0,001$).

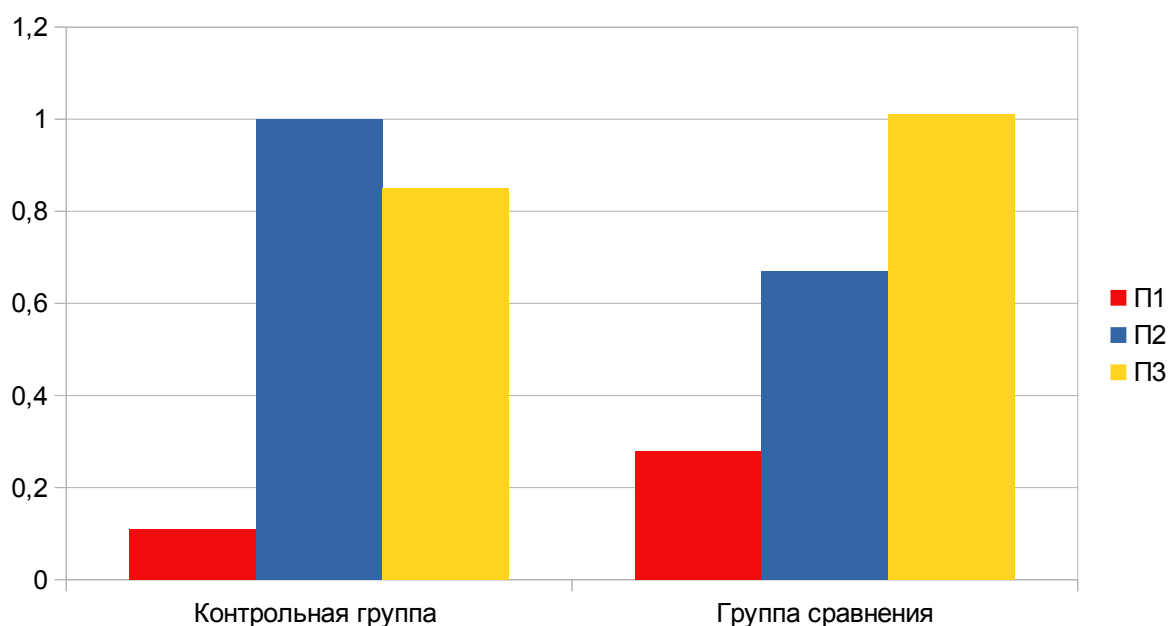


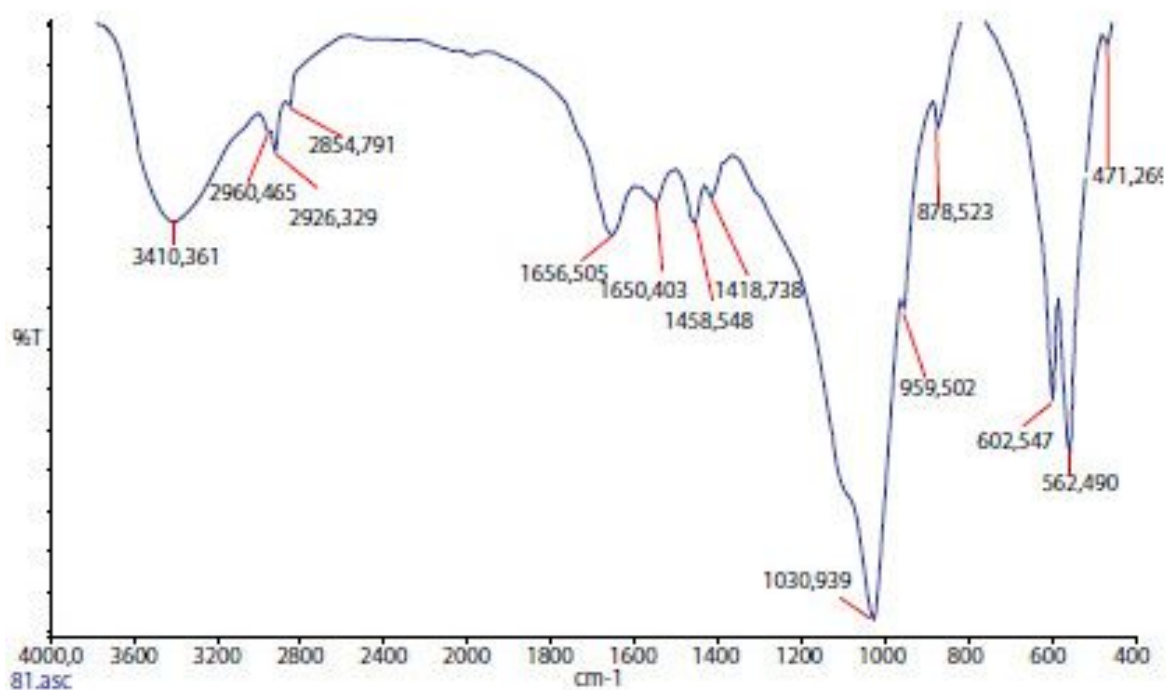
Рис. 1. Изменения параметров ИК-спектров сыворотки крови в экспериментальных группах, где П₁, П₂, П₃ – отношения пиков полос поглощения

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 П₁, П₂, П₃ можно сделать

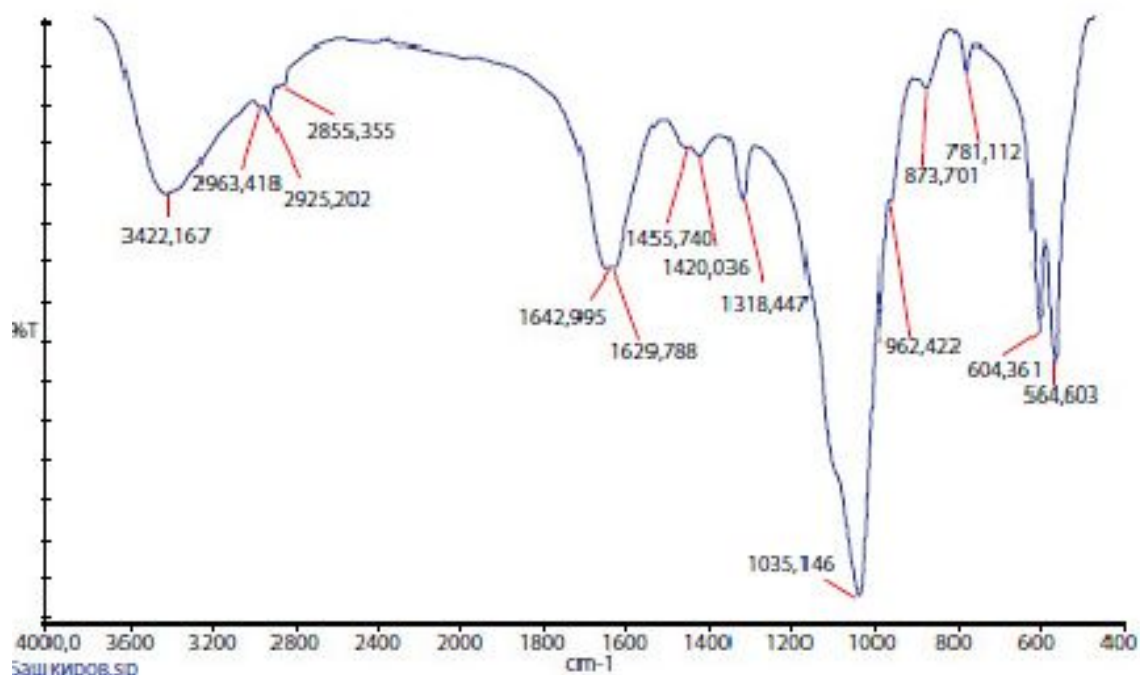
заключение о повышении содержания фосфатов, карбонатов, снижении оксалатов и мочевой кислоты в крови.

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 [16] рассмотрено сходство слюнных сиалолитов и почечных фосфатных камней (рис. 2). 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.



A)



В)

Рис. 2. ИК-спектры А) – слюнного камня, В) – почечного камня

Также в работе [17] проведен дифференциальный анализ мочевых камней, в том числе и методом ИК-спектроскопии. Образование кристаллов мочевой кислоты также происходит и при подагре (рис. 3). 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 [18], 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.

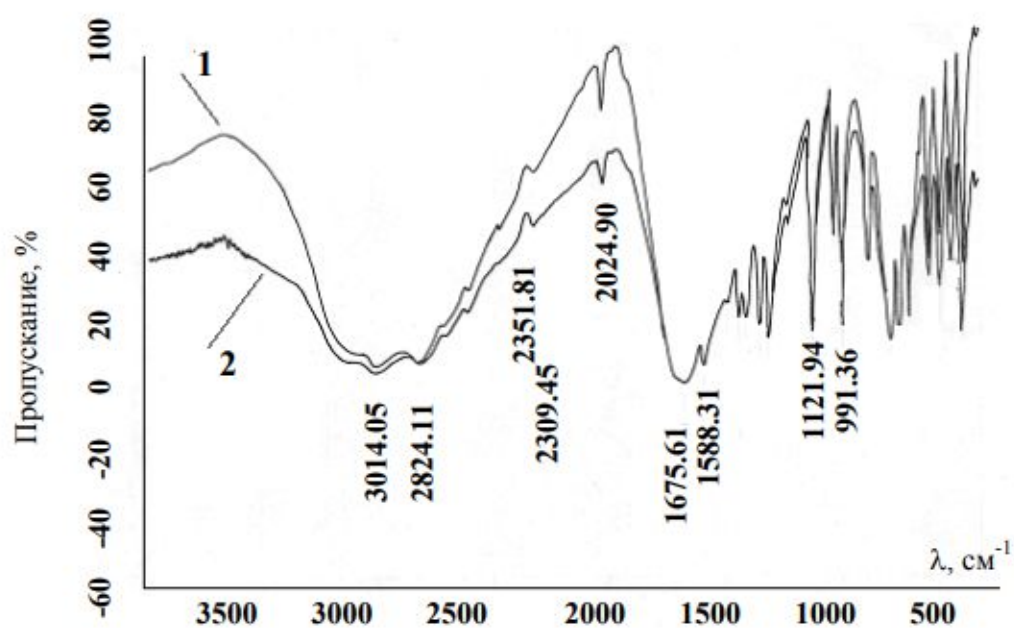


Рис. 3. ИК-спектр мочевой кислоты

Клинический пример. Больной К., 53 года. Обратился за помощью в урологическое отделение. Диагноз – МКБ.

Используя метод ИК-спектроскопии, провели исследование сыворотки крови данного пациента, результат представили в виде диаграммы (рис. 4).

Как видно из рисунка 2, значения параметров 1–3 достоверно не отличаются от соответствующих значений группы сравнения, а значит, можно заключить, что у данного больного МКБ с высокой долей вероятности имеется преимущественно фосфатный тип мочевого камня.

Таким образом, ИК-спектроскопия сыворотки крови позволяет выявить наличие МКБ. Предлагаемый подход является объективным и точным, а также не требует больших материальных и временных затрат.

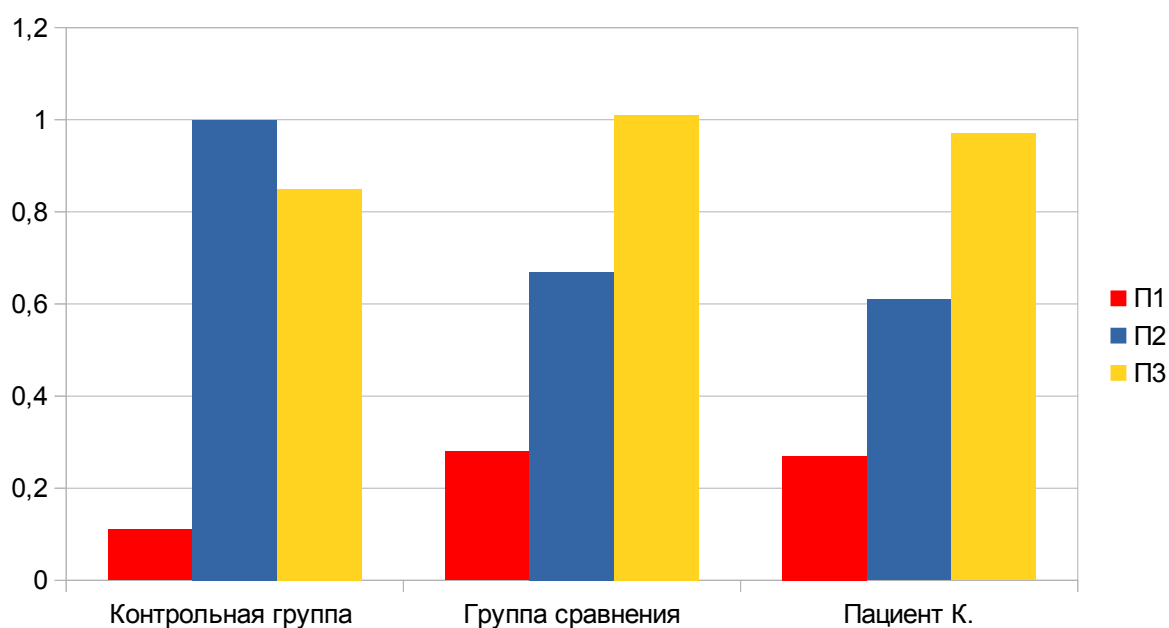


Рис. 4. Изменение параметров ИК-спектра сыворотки крови пациента К

Заключение. 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. C. 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. 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.
3. 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.
4. 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.

5. Turney B.W., Reynard J.M., Noble J.G., Keoghane S.R. Trends in urological stone disease. *BJU Int.* 2012. Vol. 109 (7). P. 1082–1087. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10495.x.
6. Способ определения ионов оксалата в моче // Патент РФ №2410692, заявка №2009110588/15, от 23.03.2009.
7. Munoz J.A., Lopez-Mesas M. A method for determining metabolites in urine by capillary electrophoresis. *Valiente, M., Talanta.* 2010. Vol. 81. P. 392.
8. Способ диагностики мочекаменной болезни // Патент РФ №2484468, заявка №2011130877/15, от 22.07.2011,
9. Гордецов А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей // *Современные технологии в медицине.* 2010. № 1. С. 84-98.
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. Арзыкулов Ж.А. Клинико-спектроскопическая характеристика рака легкого. Алма-Ата: Ат КМН, 1990. С. 325.
12. Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений // *Справочные материалы.* М., 2012. С. 51.
13. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): учеб. для вузов. М.: Высшая школа. 2005. 615 с.
14. 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.
15. 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.
16. Чечина И.Н., Неймарк А.И., Неймарк Б.А. Патогенное минералообразование в почках и слюнных железах // *Экспериментальная и клиническая урология.* 2010. № 4. С. 30-31.
17. Аляев Ю.Г., Ефимова Ю.А., Кузьмичева Г.М. Методы анализа состава и строения мочевых камней // *Вестник МИТХТ.* 2006. № 6. С. 87-99.
18. Анненков А.В., Авдошин В.П., Андрюхин М.И., Исрафилов М.Н. Оптимизация лечения мочекаменной болезни у больных подагрой, осложненной нефропатией // *Вестник РУДН, серия Медицина.* 2013. № 1. С. 89-93.