Оценка эффективности современных методов лабораторной диагностики мочекаменной болезни

С.И. Сулейманов[1], З.А. Кадыров[1], В.Н. Истратов[2], В.Ш. Рамишвили[1]

[1] *Факультет повышения квалификации медицинских работников Российского университета дружбы народов*
[2] *Институт хирургии им. А.В. Вишневского РАМН*

В работе представлены данные по использованию хромато-масс-спектрометрии и агрегатометрии у 123 пациентов в возрасте от 15 до 81 года, госпитализированных в экстренном порядке в урологические отделения городской клинической больницы № 7 г. Москвы с 2004 по 2008 г. с приступом почечной колики. Определен уровень литогенных веществ и основные виды агрегатограмм у пациентов с уролитиазом. Показана возможность использования параметров агрегации для диагностики мочекаменной болезни и разработки методов профилактики камнеобразования у пациентов с приступом почечной колики.
Ключевые слова: мочекаменная болезнь, уролитиаз, хромато-масс-спектрометрия, агрегатометрия, почечная колика.

Введение

Проблема **мочекаменной болезни** (МКБ) актуальна во всем мире, в том числе в России. Наличие эндемических регионов и плохие бытовые условия предрасполагают к росту заболеваемости и заставляют искать новые подходы к диагностике, лечению и профилактике МКБ.

По прогнозу ученых, число случаев МКБ будет возрастать в связи с изменением характера питания и увеличением количества неблагоприятных экологических факторов, оказывающих прямое воздействие на организм человека. Мочекаменная болезнь занимает одно из первых мест среди урологических заболеваний: в среднем по России ее доля составляет 34,2%, а доля пациентов с этим заболеванием – 30–40% контингента урологических стационаров. Актуальность проблемы обусловлена еще и тем, что в 65–70% случаев МКБ диагностируется у лиц в возрасте 20–60 лет, т.е. в наиболее активном трудоспособном периоде жизни.

Контактная информация: Сулейманов Сулейман Исрафилович, s.i.suleymanov@mail.ru

В большинстве трудов, посвященных проблеме лечения и профилактики рецидивов МКБ, не учитываются современные диагностические возможности: обследование пациентов носит непоследовательный характер, а при выборе диагностического метода не принимается в расчет его информативность. Для оценки многообразия патогенетических механизмов необходим универсальный метод или группа методов, позволяющих оперативно установить комплекс основных показателей и контролировать их соотношение по мере развития патологического процесса.

Такой группой методов является хромато-масс-спектрометрия основных видов литогенных веществ и соединений, определяющих условия для образования и развития камня, и агрегатометрия, позволяющая определить возможность возникновения в перенасыщенной литогенными веществами моче агрегатов кристаллов с необходимыми для дальнейшего роста камня минимальными размерами.

Целью исследования явилась разработка диагностических и прогностических кри-

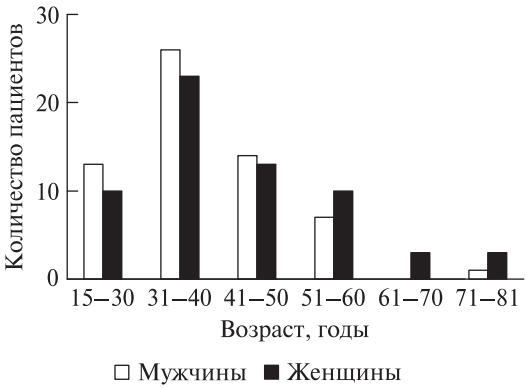

Рис. 1. Распределение пациентов по возрасту и полу (n = 123).

териев развития МКБ с помощью хромато-масс-спектрометрии и агрегатометрии.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили клинико-лабораторные данные 123 пациентов, госпитализированных в экстренном порядке в урологические отделения городской клинической больницы № 7 г. Москвы и клинической больницы г. Жуковского Московской области с приступом почечной колики (рис. 1). Большинство пациентов (n = 76; 61,8%) были в возрасте от 31 до 50 лет. Заболевание одинаково часто встречалось у мужчин и женщин.

У 14 пациентов (11,4%), несмотря на наличие выраженного болевого приступа, односторонней дилатации **чашечно-лоханочной системы** (ЧЛС), ирритативной симптоматики и эритроцитурии, конкременты при рентгеноурологическом исследовании не обнаружены. В ходе повторного ультразвукового исследования почек (после стихания клинических проявлений) мы не обнаружили дилатацию ЧЛС, что, вероятнее всего, было связано с самостоятельным отхождением камней небольшого размера или слизисто-солевого сгустка на фоне консервативной спазмолитической терапии в первые часы госпитализации. У этой группы пациентов определение формы МКБ и типа нарушения обмена основывалось преимущественно на результатах исследования уровня литогенных веществ в моче.

Всем пациентам проводилось комплексное клиническое обследование, включавшее не только лабораторные (общий и биохимический анализ крови, общий и бактериологический анализ мочи) и лучевые (ультразвук, рентген) методы исследования, но и современные хроматографические и масс-спектрометрические способы анализа мочи.

Хроматографическое и масс-спектрометрическое определение уровня литогенных веществ (щавелевой, мочевой и фосфорной кислот), летучих жирных кислот, фенолов и крезолов выполнялось с использованием газовой хромато-масс-спектрометрической системы Hewlett-Packard с газовым хроматографом HP-6890 и масс-селективным детектором MSD-5973. Идентификация соединений проводилась с помощью химической станции GS/MSD – Chemt/Station.

Агрегатометрия (моделирование процесса камнеобразования in vitro) проводилась на приборах KZM-1M (Германия), оптическом агрегометре серии 490 (Chronolog, США) и лазерном агрегометре LA-230 (“Биола”, Россия) спектрофотометрическим способом. Индуцирование процесса агрегатообразования выполнялось на аппарате фирмы Sigma-Aldrich (Швейцария) по методике Born с использованием химически чистых соединений – солей фосфорной, щавелевой и мочевой кислот.

Энзимологические исследования пептидогидролаз – **лейцинаминопептидазы (микросомальной и цитозольной** – ЛАП-М и ЛАП-С) – проводились с использованием наборов фирмы DiaSys (Германия). Статистическая обработка данных клинико-лабораторных исследований выполнена с применением многомерной статистики – корреляционного, факторного и кластерного анализов по программе Гарвардского университета BMDP-2M для биомедицинских исследований. Также использовался пакет примерных программ Excel версии 7.0, раздел программ “Анализ данных”. Различия между сравниваемыми величинами при-

Таблица 1. Соотношение показателей агрегации при различных формах МКБ для 1–3-й групп

Параметры агрегации	1-я группа (n = 31)	2-я группа (n = 29)	3-я группа (n = 44)
Скорость агрегации, с (норма 3,66 ± 0,31 с)	7,42 ± 0,085*	4,22 ± 0,055	6,4 ± 0,075**
Размеры агрегатов, мкм (норма <1,0 мкм)	14,6–19,1	8,3–11,2	4,2–6,8
Фазность процесса агрегации	Однофазный	Однофазный	Однофазный

* p < 0,01, ** p < 0,5 – по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2. Соотношение показателей агрегации при различных формах МКБ для 4-й группы (n = 19)

Параметры агрегации	Форма МКБ		
	кальций-оксалатная (n = 4)	кальций-фосфатная (n = 6)	оксалатно-мочекислая (n = 9)
Скорость агрегации, с (норма 3,66 ± 0,31 с)	7,94 ± 0,08*	4,06 ± 0,05	7,1 ± 0,07*
Размеры агрегатов, мкм (норма <1,0 мкм)	16,3–20,1	10,1–12,3	6,6–8,2
Фазность процесса агрегации	Двухфазный	Двухфазный	Двухфазный

* p < 0,01 – по сравнению с контрольной группой.

знавались статистически достоверными при уровне значимости p < 0,05 по критерию Стьюдента.

Комплексное обследование пациентов проводилось на базе клинико-биохимической лаборатории клинико-диагностического отдела Института хирургии им. А.В. Вишневского РАМН.

Результаты

С учетом типа нарушения обмена все пациенты были разделены на 4 группы. В 1-ю группу вошли пациенты (n = 31; 25,2%) с кальций-оксалатной формой МКБ, высоким содержанием в моче щавелевой кислоты (4,82 ± 0,59 ммоль/сут; p < < 0,5 по сравнению с контрольной группой), умеренно высоким уровнем летучих жирных кислот (0,201–0,219 ммоль/сут; p < 0,01); pH мочи 4,49–6,06. Во 2-ю группу вошли пациенты (n = 29; 23,6%) с кальций-фосфатной формой МКБ, повышенным содержанием в моче фосфорной кислоты (8,78 ± 0,94 ммоль/сут; p < 0,01), высоким уровнем летучих жирных кислот (0,249–0,313 ммоль/сут; p < 0,01); pH мочи 7,71–8,02. В 3-ю группу вошли пациенты (n = 44; 35,8%) с мочекислой формой МКБ, высоким содержанием мочевой кислоты (5,70 ± 0,6 ммоль/сут; p < 0,5), низким уровнем летучих жирных кислот (0,096–0,126 ммоль/сут); pH мочи 4,31–4,96. В 4-ю группу вошли пациенты (n = 19; 15,4%), у которых отмечалось одновременное увеличение концентрации щавелевой (7,59 ± 0,68 ммоль/сут), мочевой (6,26 ± 0,57 ммоль/сут) и фосфорной (8,11 ± 0,76 ммоль/сут) кислот (p < 0,5), что позволило предположить наличие “смешанного” типа камнеобразования.

На фоне консервативной терапии самостоятельное отхождение конкрементов размерами не более 4–6 мм произошло у 72 пациентов (58,5%). Тридцати семи пациентам (30,1%) с конкрементами размерами от 7 до 10 мм, некупирующимся приступом почечной колики и дилатацией ЧЛС на стороне поражения были проведены сеансы дистанционной литотрипсии с удовлетворительной фрагментацией и последующим отхождением камней.

Наряду с хромато-масс-спектрометрическим определением уровня литогенных ве-

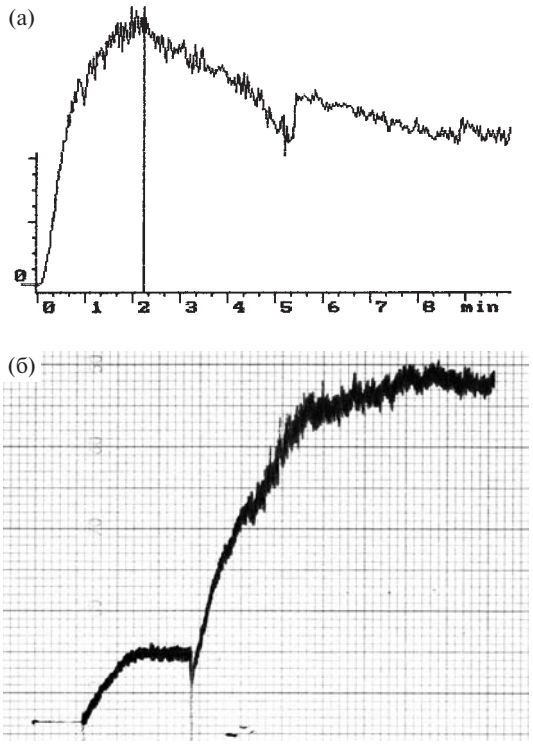

Рис. 2. Агрегатограммы пациентки В. со смешанной оксалатно-фосфатной формой уролитиаза, выполненные на лазерном агрегометре "Биола" (а) и на приборе KZM-1M (б).

ществ мы проводили агрегатометрию, позволяющую моделировать процесс камнеобразования in vitro. Агрегатометрия состоит из следующих этапов:

- инициация процесса образования агрегатов кристаллов в моче конкретного пациента;
- определение размеров агрегатов;
- определение типа агрегатограмм (одно- или двухфазная).

Оптимальные значения pH для кристаллизации солей мочевой кислоты – до 5,5, солей щавелевой кислоты – 6,0–6,8, фосфорной кислоты – выше 7,0. Мы определили нормативные параметры агрегации: время максимальной агрегации – 0,65 ± ± 0,07 с, скорость агрегации – 3,66 ± 0,31 с, размер агрегатов – менее 1,0 мкм.

В ходе исследования отмечено изменение скорости агрегации и размеров агрегатов в моче у пациентов с разными формами МКБ (табл. 1 и 2). Полученные данные позволили определить основные типы агрегатограмм. Двухфазные агрегатограммы характеризовали смешанную форму МКБ и имели следующие параметры:

– вевеллит–брушит: время максимальной агрегации I фазы – 8,19 ± 0,76 с, скорость агрегации – 6,76 ± 0,71 с, размеры агрегатов – 12,13 ± 1,79 мкм; время максимальной агрегации II фазы – 10,21 ± 1,07 с, скорость агрегации – 4,81 ± 0,52 с, размеры агрегатов – 9,09 ± 1,73 мкм;

– вевеллит–мочевая кислота: время максимальной агрегации I фазы – 8,73 ± ± 0,79 с, скорость агрегации – 6,93 ± 0,77 с, размеры агрегатов – 13,44 ± 1,94 мкм; время максимальной агрегации II фазы – 5,13 ± 0,67 с, скорость агрегации – 6,26 ± ± 0,57 с, размеры агрегатов – 4,77 ± ± 0,81 мкм.

На рис. 2 представлены агрегатограммы пациентки со смешанной формой МКБ, выполненные на приборе KZM-1M и лазерном агрегометре "Биола".

Таблица 3. Содержание пептидогидролаз в моче пациентов с различными формами МКБ

Основные факторы камнеобразования	1-я группа (n = 31)	2-я группа (n = 29)	3-я группа (n = 44)	4-я группа (n = 19)
pH мочи	5,27 ± 0,56	7,86 ± 0,73	4,63 ± 0,57	6,53 ± 0,37
Активность ЛАП-С, ед. (норма 0,72 ± 0,13 ед.)	3,47 ± 0,73*	3,39 ± 0,50*	2,34 ± 0,29	3,33 ± 0,49*
Активность ЛАП-М, ед. (норма 2,74 ± 0,38 ед.)	4,62 ± 0,58	5,89 ± 0,80**	3,07 ± 0,32	6,68 ± 0,69*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,5$ – по сравнению с контрольной группой.

Дополнительным диагностическим тестом, существенно облегчающим понимание патогенеза МКБ, является энзимологический анализ мочи с исследованием активности пептидогидролаз, а именно ЛАП-С как показателя формирования органической матрицы камня и ЛАП-М, локализующейся в клетках канальцев почки и характеризующей степень поражения паренхимы почки. Содержание гидролитических ферментов в моче у пациентов с различными формами МКБ представлено в табл. 3.

Во всех группах было отмечено увеличение показателей ЛАП-С. В группе пациентов с кальций-фосфатной и смешанной формами МКБ наряду с увеличением показателей ЛАП-С наблюдалось достоверное увеличение уровня ЛАП-М (5,89 ± 0,80 ед. ($p < 0,5$) и 6,68 ± 0,69 ед. ($p < 0,05$) соответственно), что указывало на сопутствующий воспалительный процесс.

Обсуждение

Одним из важнейших направлений в организации диагностики и лечения пациентов с МКБ на сегодняшний день является создание свода современных базовых рекомендаций, которые должны прийти на смену множеству разнообразных необоснованных "стандартов", составляемых в отдельных учреждениях и регионах в соответствии с их оснащенностью и возможностями.

Оценивая результаты проведенного исследования, мы считаем, что процесс камнеобразования возможен в условиях высокого уровня литогенных веществ – солей щавелевой, фосфорной и мочевой кислот, создающих метастабильное состояние мочи, при котором возникает готовность к агрегации кристаллических структур. Проводя сравнительный анализ данных хромато-масс-спектрометрии и агрегатометрии, мы выявили зависимость между высоким уровнем литогенных веществ в моче, параметрами агрегации и минеральным составом камня, что позволяет использовать указанные методы для оценки типа нарушения обмена и определения формы МКБ. На основании данных агрегатометрии можно определить фазность течения процесса, характеризующего структуру камня, разрабатывать и применять различные методы патогенетического лечения МКБ преимущественно на начальной стадии развития патологического процесса.

Заключение

В ходе проведения исследования мы определили приоритетные клинико-лабораторные показатели, которые можно использовать в качестве диагностических и прогностических критериев развития МКБ. Наиболее информативными из них являются: pH мочи, данные агрегатометрии, уровень ЛАП-С, крезолов, фенолов и литогенных веществ. Таким образом, использование современных методов лабораторного анализа позволяет не только улучшить качество диагностики, но и повысить эффективность лечебно-профилактических мероприятий, направленных на предупреждение рецидивирования МКБ.

С рекомендуемой литературой вы можете ознакомиться на нашем сайте www.atmosphere-ph.ru

Urolithiasis: Modern Methods of Laboratory Diagnosis

S.I. Suleimanov, Z.A. Kadyrov, V.N. Istratov, and V.Sh. Ramishvili

The study included 123 patients aged 15–81 that were urgently admitted to departments of urology of State Clinical Hospital № 7 (Moscow) with renal colic from 2004 to 2008. Chromatography-mass spectrometry and aggregometry were used to determine the level of lithogenic substances in urine and the main types of aggregograms. Aggregation parameters can be used to diagnose urolithiasis and develop methods for prevention of the disease in patients with renal colic.

Key words: urolithiasis, chromatography-mass spectrometry, aggregometry, renal colic.