

9. Reccsan Z., Pagliuca G., Piretti MV, Penzes L.G., Youdim K.A., Noble R.C., Deans S.G. Effect of Essential Oils on the Lipids of the Ageing Rat Retinas: A Possible Therapeutic Use. *J. Essent. Oil Research.*, 1997, vol. 9, no. 1, pp. 53-56.

10. Youdim K.A., Deans S.G. Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British J. Nutr.* 2000, vol. 83, no. 1, pp. 87-93.

11. Deans S.G., Noble RC, Penzes L., Imre S.G. Promotional effects of plant volatile oils on the polyunsaturated fatty acid status during aging. *Age*, 1993, vol. 16, no. 1, pp. 71-74.

12. Бурлакова Е.Б., Ерохин В.Н., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Кременцова А.В., Семенов В.А., Теренина М.Б., Воробьева А.К., Голощапов А.Н. Влияние летучих антиоксидантов растительного происхождения на развитие спонтанного лейкоза у мышей. *Изв РАН. Сер. Биол.*, 2010, т. 37, № 6, с. 711-718. [Burlakova E.B., Yerokhin V.N., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Kremntsova A.V., Semenov V.A., Terenina M.B., Vorobieva A.K., Goloshchapov A.N. The effect of volatile antioxidants of plant origin on leukemogenesis in mice. *Biology Bulletin*, 2010, vol. 37, no. 6, pp. 612-618. (In Russ.)]

13. Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Фаткуллина Л.Д., Теренина М.Б., Крикунова Н.И., Ерохин В.Н., Воробьева А.К. Изменения в составе жирных кислот мозга и печени мышей с увеличением возраста и при приеме эфирного масла чабера. *ДАН*, 2011, т. 437, № 3, с. 409-412. [Burlakova E.B., Misharina T.A., Fatkullina L.D., Terenina M.B., Krikunova N.I., Yerokhin V.N., Vorobieva A.K. Alteration in fatty acid composition of mice brain and liver with aging and savory essential oil administration. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2011, vol. 437, no. 3, pp. 80-83.]

ИССЛЕДОВАНИЕ ОЛИГОМЕРНЫХ ФОРМ БЕЛКА ТАММА-ХОРСФАЛЛА У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ МЕТОДОМ ДИНАМИЧЕСКОГО СВЕТОРАССЕЯНИЯ

Эмануэль В.Л.¹, Ланда С.Б.², Измайлов М.¹

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова
ул. Л. Толстого, 6-8, г. Санкт-Петербург, 197022, РФ
e-mail: vladimireml@gmail.com

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»
Орлова роща, г. Гатчина, 188300, РФ
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Аннотация. Мочекаменная болезнь (МКБ) представляет серьёзную проблему социального значения [1]. Образование мочевых камней связано с физико-химическими процессами, при которых происходит снижение порога растворимости солей или превышения их концентрации над порогом растворимости [2]. Среди факторов препятствующих кристаллизации мочевых солей, основную роль играет белок Тамма-Хорсвалла (БТХ). Ранее было показано, что БТХ может существовать в различных олигомерных формах [14]. Методом динамического светорассеяния нами показано, что количественное соотношение основных форм БТХ с MW 7 MD и 28 MD зависит от pH, и концентрации одновалентных катионов и не зависит от концентрации мочевины (осмолярности мочи). Соотношение форм БТХ отличается у здоровых людей и больных МКБ. Разработан метод лабораторной диагностики МКБ, основанный на измерении соотношения олигомерных форм БТХ в моче пациента.

Ключевые слова: Мочекаменная болезнь, Тамма-Хорсвалла, олигомерные формы, pH, одновалентные катионы, мочевина, осмолярность мочи.

INVESTIGATION OF TAMM-HORSFALL PROTEIN OLIGOMEROUS FORMS OF A HEALTHY PERSONS AND A UROLITHIASIS PATIENTS BY DYNAMIC LIGHT SCATTERING METHOD.

Emanuel V.L.¹ Landa S.B.², Izmailov M.¹

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
L'va Tolstogo str. 6/8, St. Petersburg, 197022, Russia
e-mail: vladimireml@gmail.com

² B.P. Konstantinov Peterburg Nuclear Physics Institute NRC "Kurchatov Institute"
Orlova Roscha, Gatchina, 188300, RF
e-mail: sergey.landa@gmail.com

Abstract. Urolithiasis remains a medical and a social problem [1]. The formation of urinary stones occurs when the threshold of salts solubility descends or excess concentration above the threshold of solubility [2]. The Tamm-Horsfall protein (THP) is the inhibitor of the crystallization process. The Tamm-Horsfall protein in various conditions may exist in different oligomeric forms [14]. The method of dynamic light scattering shows the dependence of the ratio of the forms of THP with the molecular weight 7 MD and 28 MD from the pH and concentration of univalent cations and no dependence on the urea concentration (urine osmolarity). The ratio forms of the THP is different in healthy persons urine and in urine of patients with urolithiasis. A new method for preclinical diagnostics of urolithiasis is presented in the article.

Key words: Urolithiasis, Tamm-Horsfall protein (Uromodulin), oligomeric forms, pH, univalent cations, urea, urine osmolarity.

Образование мочевых камней связано с физико-химическими процессами, при которых, вследствие превышения концентрации солей над порогом их растворимости в моче начинается образование кристаллов и их постепенный рост [2]. В моче присутствуют факторы, замедляющие образование твердофазных структур оксалата и фосфата кальция, среди которых особый интерес вызывает белок Тамма-Хорсфалла (БТХ), впервые описанный как «мукопротеин мочи» [3]. Игорь Тамм и Франк Хорсфалл выделили из мочи с помощью высокой концентрацией соли [4]. Было показано, что мономер БТХ имеет молекулярную массу (ММ) в пределах 80-100 кДа и воздействует на фазу нуклеации роста кристаллов [6,7], ингибируя их агрегацию. Удаление сиаловых кислот БТХ с помощью нейраминидазы приводило к потере ингибирующего эффекта *in vitro* [8].

Биофизическими методами было показано, что БТХ в различных условиях может существовать в различных олигомерных формах [9]. Основная форма, обозначенная авторами как – Т&НЕ(7), имеет ММ 7 МДа и представляет собой гибкую нить диаметром 4 – 5 нм и длиной 600 нм. Гидродинамический радиус (R_h) так называемого гауссового клубка составляет 102.4 ± 3.56 нм [10]. При повышении ионной силы раствора форма Т&НЕ(7) образует полимерную форму – Т&НЕ(28) из 4 нитей Т&НЕ(7) с ММ 28 МДа, шириной 8 – 10 нм и длиной 1200 нм.

Целью исследования явилось изучение количественных соотношений различных олигомерных форм БТХ и зависимости взаимных переходов форм Т&НЕ(7) \leftrightarrow Т&НЕ(28) от рН, концентрации одновалентных катионов и мочевины у здоровых людей и у людей, страдающих МКБ.

Материалы и методы. Исследование проведено в группе из 10 человек с верифицированной МКБ в возрасте 17-40 лет и группе сравнения – 10 практически здоровых лиц, соответствующего пола и возраста.

Для выделения БТХ из мочи применяли метод высаливания [4]. К 0.5 л мочи добавляли NaCl до конечной концентрации 0.6 М, помещали в холодильник на 24 часа при температуре + 4 °С. Образцы центрифугировали при 10000 g в течение 30 минут при 4 °С. Надосадочную жидкость сливали, а осадок ресуспендировали 3 мл PBS-буфера и помещали в диализный мешок с размером пор до 30 кДа. Диализ проводили в течение 24 часов против 1000-2000 кратного объема дистиллированной воды при +4 °С. Степень очистки БТХ проверяли с помощью денатурирующего электрофореза в ПААГ по методике описанной в [11].

Измерение размеров частиц осуществляли на спектрометре динамического светорассеяния “ПЛСС” («ООО ИНТОКС МЕД», Россия - РУ № 2014/1650/2014г). Метод динамического светорассеяния основан на взаимодействии монохроматического когерентного излучения со светорассеивающими частицами исследуемой жидкости. Информация обо всех динамических процессах в изучаемой системе содержится в спектре флуктуаций света, рассеянного на частицах в растворе. Спектр (или корреляционная функция) флуктуаций фототока на выходе фотоприемника совпадает со спектром рассеянного света и описывается лоренцианом (или в случае корреляционной функции экспонентой). Полуширина кривой прямо пропорциональна среднему коэффициенту диффузии – D . По величине среднего коэффициента диффузии, по формуле Эйнштейна-Стокса определяется средний гидродинамический радиус частиц - R_h . Для оценки флуктуаций фототока рассеивающих частиц разных размеров, составляющих полидисперсные жидкости, используется суммирование лоренцианов для рассеивающих частиц с определенными гидродинамическими радиусами. Решение обратной задачи методом регуляризации позволяет восстановить из спектра флуктуаций фототока гистограмму распределения частиц по размерам, (гистограмма субфракционного состава) в которой ось абсцисс – калибруется в единицах размера (в нанометрах), а по оси ординат фиксируется вклад в общее рассеяние образца частиц данного размера в процентах [12]. Метод регистрирует образование макромолекулярных комплексов в сложных биологических системах, не прибегая к фракционированию или иным действиям, нарушающим нативные условия, в которых происходит комплексообразование.

Исследование проводили в 200 мкл образца с накоплением 10000 реализаций спектра плотности мощности флуктуаций интенсивности света, рассеянного частицами образца. Полоса измерения спектров позволяет получить гистограмму распределения частиц по размерам в диапазоне от 1 до 5000 нм с расчетом для каждого пика среднего значения и вклад в рассеяние в % от общего рассеяния частиц образца. Для каждого образца измерения проводили не менее 6 раз, что позволяет получить среднее и дисперсию размера и вклада в рассеяние для каждой фракции частиц.

Исследования динамики перехода олигомерных форм БТХ под влиянием рН и одновалентных катионов проводили с использованием универсального буфера из смеси уксусной, фосфорной и борной кислот в эквимолярном соотношении по 40 мМ каждая. До нужного рН смесь доводится 200 мМ NaOH. В выбранном диапазоне рН ионная сила буферного раствора колебалась от 123 мМ для рН - 2.56 до 136 мМ для рН - 9.91. Для получения необходимой ионной силы раствор буфера либо разбавляли дистиллированной водой до нужной концентрации, либо доводили до нужной концентрации 1М или 3М раствором NaCl. После получения раствора с необходимой ионной силой снова контролировали рН и в случае необходимости подтитровывали 0.2 М NaOH. Аликвоты очищенного БТХ разбавляли буфером в соотношении 1:1000 и помещали в кювету спектрометра. Для формы Т&НЕ(7) строили кривые зависимости вклада в рассеяние от рН раствора для каждой ионной силы отдельно. Были получены семейства таких кривых для БТХ здоровых и больных МКБ очищенного с помощью диализа, и БТХ который не удалось очистить диализом. Для выяснения различий в действии одновалентных катионов буферные растворы готовили также, только NaOH заменяли на KOH или водный раствор аммиака, а NaCl на KCl или NH₄Cl. Для выяснения влияния мочевины к раствору 15мМ буфера при рН = 6 добавляли 8М мочевины, так, чтобы конечная концентрация составляла 0, 50, 150, 250, 350, 450, 600,

800 и 1000 ммоль/л. После этого, к растворам добавляли водный раствор БТХ в соотношении 1:1000 и проводили измерения как описано выше.

Результаты. Анализ гистограмм распределения частиц по размерам позволил выделить три группы распределений. БТХ, выделенный из мочи здоровых людей относится к первой группе (см. рис. 1А). В этой группе основной вклад в светорассеяние вносят частицы с R_h 97.9 ± 4.93 нм. Их вклад в светорассеяние составляет 97.3 ± 2.6 %. Согласно [10] такой R_h имеют частицы с ММ порядка 7-9 МДа. Кроме основного пика на гистограмме присутствуют пик частиц с R_h 368 ± 35.0 нм. Их доля в светорассеянии составляет 2.6 ± 0.93 %.

Иначе говоря, в первом случае мы фиксируем олигомерную форму Т&НЕ(7), а во втором, Т&НЕ(28).

На рисунке 1Б представлена гистограмма относящаяся ко второй группе, представленной БТХ выделенного из мочи больных МКБ. Как видно из приведенных данных, кроме олигомеров Т&НЕ(7) с $R_h = 105.2 \pm 1.96$ нм, вклад которых в рассеяние составляет 41.1 ± 2.36 %, в образце присутствует значительное число олигомеров Т&НЕ(28) с $R_h = 402 \pm 10.6$ нм, вклад в рассеяние которых составляет 58.2 ± 1.94 %. Кроме описанного выше распределения у больных МКБ регистрируется и другой тип распределения частиц по размерам (см. рис. 1В), отличительной чертой которого является наличие крупных конгломератов, имеющих R_h от 1500 нм и более, вклад которых может достигать 12 % и более. Такие частицы трудно растворимы и не удаляются при диализе.

Для изучения зависимости перехода формы Т&НЕ(7) в Т&НЕ(28) при модуляции ионной силы мочи аликвоты образцов были помещены в раствор NaCl различных концентраций: 0 М, 0.05 М, 0.15 М, 0.25 М, 0.35 М, 0.45 М и 0.6 М при pH 7. На рисунке 2 представлена зависимость уменьшения вклада олигомерной формы Т&НЕ(7) в светорассеяние от концентрации ионов в растворе при pH = 6, содержащем образцы БТХ из мочи здоровых (А) и больных МКБ, у которых удалось отделить БТХ от кристаллов солей – Т&НЕ(28)F (Б) и у которых БТХ так и остался связанным с кристаллами солей Т&НЕ(28)А (В).

Исходное количество Т&НЕ(7) у здоровых людей всегда близко к 100 % (см. рис. 2А). Кривая имеет вид типичной «пороговой кривой» с точкой перегиба при концентрации 250 мМ для Na и NH₄ и 150 мМ для K. До этой концентрации образование формы Т&НЕ(28) идет медленно, а при достижении порога концентрации резко ускоряется. Уровень в 10 % достигается при концентрации соли равной 580 мМ для Na, 545 мМ для NH₄ и 450 мМ для K. Для Na точка перегиба близка к физиологическому пределу концентрации этого катиона в моче (220 мМ). Для K имеется более чем двухкратный запас: точка перегиба наступает при 150 мМ при физиологическом уровне данного катиона составляет 70 мМ. Еще больший запас имеется по NH₄, физиологический уровень для которого составляет 60 мМ.

У больных МКБ с преобладанием формы Т&НЕ(28)F (см. рис. 2Б) характеризовать порог образования формы Т&НЕ(28) невозможно, так как уже при 15 мМ концентрации Na в образце остается менее 50 % формы Т&НЕ(7). 10ти % уровень формы Т&НЕ(7) достигается при концентрации соли 140 мМ для Na и 105 мМ NH₄. В среде K количество формы Т&НЕ(7) не превышает 12 % даже при 15 мМ. В тоже время наклон обеих кривых в «беспороговой» части

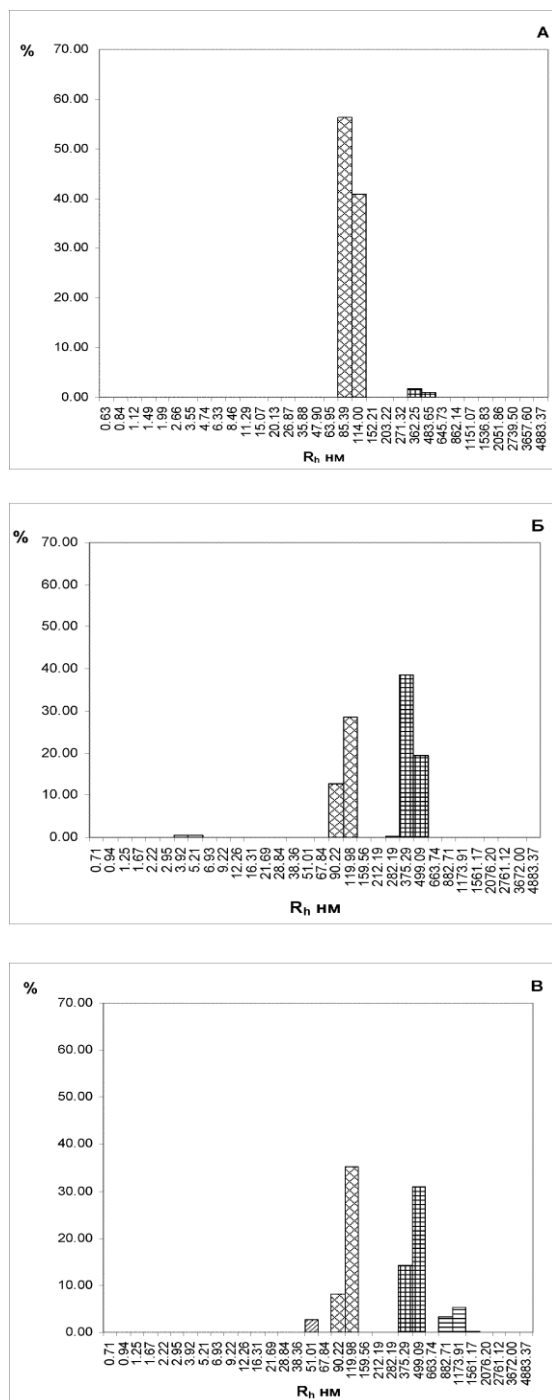


Рисунок 1 – Гистограмма распределения частиц по размерам образца белка Тамма-Хорсвалла, выделенного из мочи группы 1 – (А), 2 – (Б) и 3 – (В). По оси абсцисс гидродинамический радиус – R_h в нм, по оси ординат вклад в рассеяние, в %. Объяснения в тексте

уже при 15 мМ концентрации Na в образце остается менее 50 % формы Т&НЕ(7). 10ти % уровень формы Т&НЕ(7) достигается при концентрации соли 140 мМ для Na и 105 мМ NH₄. В среде K количество формы Т&НЕ(7) не превышает 12 % даже при 15 мМ. В тоже время наклон обеих кривых в «беспороговой» части

одинаков. Еще сильнее эта тенденция выражена в случае преобладания формы Т&НЕ(28)А (см. рис. 2В). В натриевой среде 10 % уровень формы Т&НЕ(7) наблюдается при 40 мМ, в среде аммония при 15 мМ, а в среде калия даже при 15 мМ вклад формы Т&НЕ(7) составляет не более 2 %. Переход из формы Т&НЕ(7) в форму Т&НЕ(28) происходит и при уменьшении рН раствора (см. рис. 3). Для БТХ здоровых эта зависимость тоже носят ярко выраженный пороговый характер (см. рис. 3А).

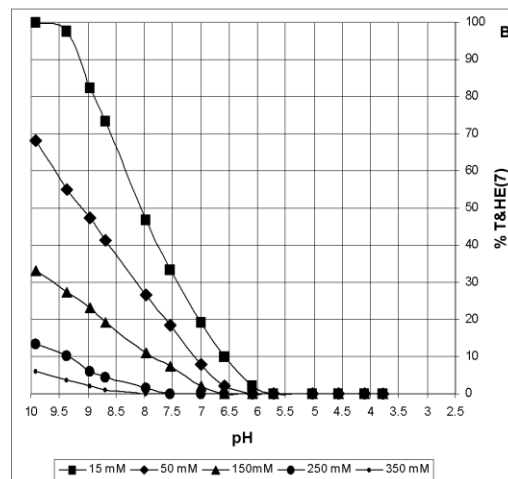
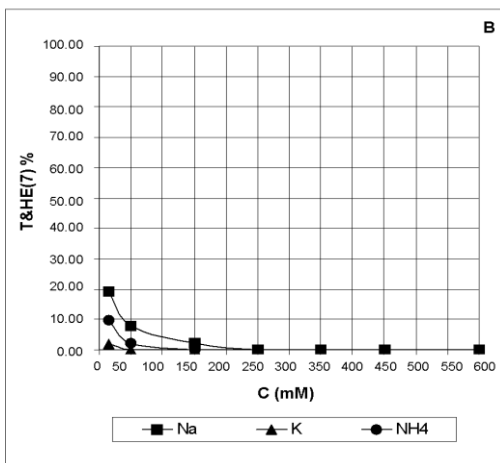
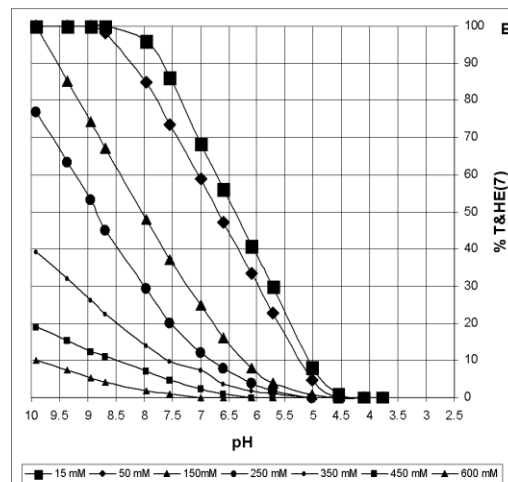
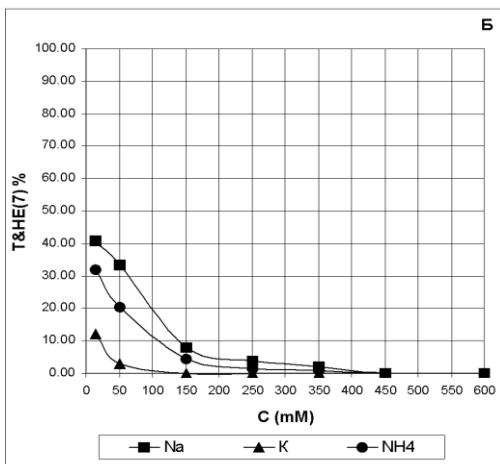
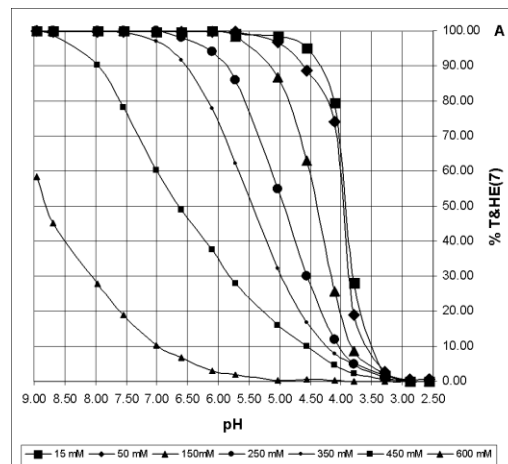
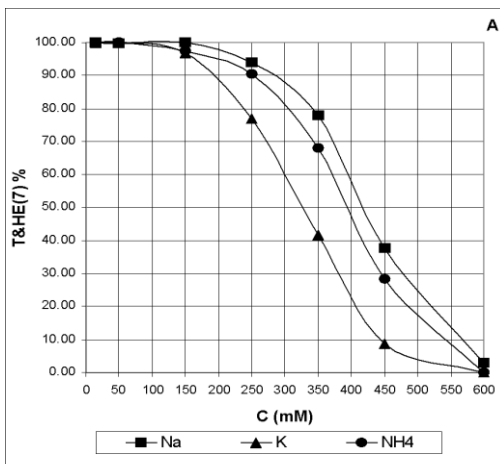


Рисунок 2 – Зависимость вклада в светорассеяние формы Т&НЕ(7) от концентрации NaCl, KCl и NH₄Cl в растворе у здоровых людей (А) и людей страдающих МКБ (Б и В). По оси Х – концентрация соли в мМ, по оси Y вклад формы Т&НЕ(7) в светорассеяние в %

Рисунок 3 – Зависимость вклада в светорассеяние формы Т&НЕ(7) от рН среды при различной концентрации NaCl, в растворе у здоровых людей (А) и людей страдающих МКБ (Б и В). По оси Х – рН, по оси Y вклад формы Т&НЕ(7) в светорассеяние в %

Особенно ярко это выражено, когда концентрация соли в растворе не превышает физиологического предела (220 мМ Na): резкое уменьшение содержания Т&НЕ(7) происходит при рН менее 4, то есть вблизи изоэлектрической точки БТХ. 10ти% предел достигается при рН 3.5-4.0. При увеличении концентрации соли

выше физиологического предела точка перегиба смещается сначала в область $\text{pH} = 6$, а затем и в область щелочных pH : при концентрации NaCl 450 мМ точка перегиба находится при $\text{pH} = 8$, а при 600 мМ NaCl кривая становится беспороговой. При этом, 10ти% предел при концентрации соли 450 мМ достигается при $\text{pH} = 4.5$, а при 600мМ NaCl при $\text{pH} = 7$.

В случае, когда преобладает форма T\&NE(28)F (см. рис. 3Б), кривая становится беспороговой уже при концентрации NaCl равной 150 мМ. При более низкой концентрации соли порог наблюдается в диапазоне pH 8.0- 8.7. 10ти % предел при этих концентрациях соли достигается при pH близкой к 5. При концентрации соли 150 мМ 10ти% предел наблюдается при $\text{pH} = 6.2$, а вблизи физиологического предела при pH близким к 7. При дальнейшем увеличении концентрации соли 10ти% предел достигается при все более щелочных pH . При концентрации NaCl 450 мМ 10ти% предел достигается при $\text{pH} = 8.7$, а при 600 мМ NaCl при $\text{pH} = 10$. В случае преобладания формы T\&NE(28)A (Рис. 3В) пороговая кривая наблюдается только при концентрации соли 15 мМ. При этом точка перегиба находится при $\text{pH} = 9.5$, а 10ти % предел достигается при $\text{pH} = 6.5$. Уже при концентрации соли 50мМ кривая становится беспороговой. 10ти % предел при этом достигается при $\text{pH} = 7.1$. При концентрации соли вблизи физиологического предела – 250 мМ 10ти% предел достигается при $\text{pH} = 9.4$.

Изучение влияния мочевины на баланс форм БТХ позволяет понять, что же влияет на олигомеризацию БТХ – осмолярность, или суммарный заряд одновалентных катионов? Для ответа на этот вопрос к раствору 15 мМ буфера при $\text{pH} = 6$ добавляли различные концентрации мочевины вплоть до 1000 мМ. Мочевина не оказывает влияния ни в случае, когда БТХ выделен у здорового человека, ни в случае уролитиаза.

Обсуждение. У здоровых людей, когда концентрация солей в моче невысока, и pH мочи находится в физиологическом интервале, БТХ существует в виде формы T\&NE(7) . При повышении концентрации солей (т.е. ионной силы) или сильном снижении pH в моче, происходит переход $\text{T\&NE(7)} \rightarrow \text{T\&NE(28)}$. За счет повышенной жесткости форма T\&NE(28) существует в растворе в виде микрофибрил, которые образуют коллоидные структуры типа микрогеля, препятствующие агрегации кристаллов оксалатов [8]. Если концентрация катионов в моче снижается, происходит обратный переход $\text{T\&NE(28)} \rightarrow \text{T\&NE(7)}$ и система возвращается в исходное состояние. Таким образом, БТХ здоровых людей имеет некий «запас прочности», препятствующий образованию формы T\&NE(28) до пороговой концентрации соли в 250- 300 мМ. и pH близкой к 4. Этот порог, скорее всего, обеспечивается сильным отрицательным зарядом на поверхности данной формы, который возникает из-за высокого содержания силловых кислот в молекуле нормального БТХ. При превышении порога начинается массовое образование формы T\&NE(28) .

У больных МКБ данные «защитные механизмы» препятствующие агрегации формы T\&NE(7) оказываются исчерпанными и образование формы T\&NE(28) начинается уже в физиологическом интервале значений pH и ионной силы мочи. Скорее всего, данный феномен связан с тем, что у больных МКБ БТХ десилирован и среди форм преобладают формы собранные из мономеров низким поверхностным зарядом. Преобладание данной формы при уролитиазе приводит к тому, что даже незначительное увеличение ионной силы раствора приводит к образованию формы T\&NE(28) . Если этот процесс сопровождается агломерацией кристаллов оксалатов и уратов и захватом их мицеллами T\&NE(28) , то образуются устойчивые крупные частицы, могущие служить ядрами для образования почечных конкрементов.

Полученные данные позволили предложить метод лабораторной диагностики уролитиаза, основанный на измерении соотношения олигомерных форм БТХ в моче пациента. На метод был получен патент [20].

Список Литературы / References:

1. Дзеранов Н. К., Захаров В. Н., Байбарин К. А. Современные литотрипторы для дистанционной литотрипсии мочевого камня. *Лечащий врач*, 2005, № 7, с. 72-76. [Dzeranov N.K., Zakharov V.N., Baibardin K.A. Modern lipotrippers for distant lipotritions of urinary stones. *Lechaschiy vratch*, 2005, no. 7, pp 72-76. (In Russ.)]
2. Единый Ю.Т., Дзюрак В.С., Желтовская Н.И. Концентрация водородных ионов мочи как один из патогенетических факторов мочекаменной болезни. *Врачебное дело*, 1987, № 12. с. 57-59. [Ediny U.T., Dzurak V.S., Geltovskaja N.I. Urinary pH is a one of pathogenic factors of urolithiasys. *Vrachebnoe delo*, 1987, no. 12, pp. 57-59. (In Russ.)]
3. Morner K. Untersuchungen uber die proteinstoffe und die eiweissfallenden substanzen des Meschenharns. *Skand. Arch. Physiol.*, 1895, vol. 6, pp. 332-337.
4. Tamm I., Horsfall F.L.Jr. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1950, vol. 74, pp. 108-114.
5. Fletcher A.P., Neuberger A., Ratcliffe W.A. Tamm-Horsfall urinary glycoprotein: The chemical composition. *Biochem. J.*, 1970, vol. 120, pp. 417-424.
6. Worcester E.M. Urinary calcium oxalate crystal growth inhibitors. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1994, vol. 5, pp. S46-S53.
7. Beshensky A.M., Wesson J.A., Worcester E.M., Sorokina E.J., Snyder C.J., Kleimann J.G. Effects of urinary macromolecules on hydroxyapatite crystal formation. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2001, vol. 12, pp. 2108-2116.
8. Chen W.C., Lin H.S., Chen H.Y., Shin C.H., Li C.W. Effects of Tamm-Horsfall protein and albumin on calcium oxalate crystallization and importance of silaic acids. *Mol. Urol.*, 2001, vol. 5, pp. 1-5.
9. Maxfield M. Fractionation of the urinary mucoprotein of Tamm and Horsfall. *Arch. Biochem.*, 1960, vol. 89, pp. 281-288.

10. Olivkr C.J., Pikk R.R., Cleave A.J., Peacocke A.R. Determination of the Diffusion Coefficient and Molecular Weight of Tamm-Horsfall Glycoprotein by Intensity Fluctuation Spectroscopy. *Biopolymers*, 1971, vol. 10, pp. 1731-1733.

11. Lau W.-H., Leong W.-S., Ismail Z., Gam L.-H. SDS-PAGE-Based Quantitative Assay for Screening of Kidney Stone Disease. *Biol Proced Online*, 2009, vol. 11, pp. 145-160.

12. Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В., Носкин В.А. *Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии*. К.: Наук, думка, 1987, 256 с. [Lebedev A.D., Levchuk U.N., Lomakin A.V., Noskin V.A. *Laser correlation spectroscopy in biology*. Kiev, Naukova dumka, 1987, 256 p. (In Russ.)]

13. Аль-Шукри С.Х., Голощапов Е.Т., Горбачев М., Ланда С.Б., Эмануэль В.Л., Эмануэль Ю.В. *Способ диагностики уролитиаза*. РП. RU 2 504 786 C1, Опубликовано: 20.01.2014, Бюл. № 2. [Al-Shukry S.H., Goloschapov E.T., Gorbachev M., Landa S.B., Emanuel V.L., Emanuel U.V. *Diagnostic technique for urolithiasis*. RP RU 2 504 786 C1, Date of publication: 20.01.2014, Bull. 2.]

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА МОЧЕВОГО СИНДРОМА

Хомутова Е.В.

Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко

ул. Р. Люксембург, 70, г. Донецк, 83114, Украина

e-mail:kat.khomutova@gmail.com

Аннотация. Одним из симптомов поражения почек является обнаружение эритроцитов при проведении общего анализа мочи. Однако дифференциальная диагностика изолированной микрогематурии у детей является непростой задачей. В современной клинической практике среди набора диагностических приемов оценивающих именно химический состав мочи наиболее используемыми являются измерения относительной плотности мочи, кислотного показателя (рН) и титруемой кислотности. Однако эти показатели мочи не всегда специфичны. В представленном исследовании для анализа мочи было применено суточное мониторирование рН мочи в сочетании с измерением её буферной емкости у пациентов с изолированной гематурией с целью усовершенствования дифференциальной диагностики мочевого синдрома.

Оказалось, что у пациентов со скоростью изменения рН в течении суток ($\delta\text{pH}_{\text{сч}}$) не выше $0,2 \text{ ч}^{-1}$ при значениях буферной емкости в интервале рН 3-9 ($\text{BCpH } 3-9 \geq 0,12 \text{ моль/л}$) кристаллурия является следствием нарушения выделения кальция, в то время как кристаллурия у пациентов с $\delta\text{pH}_{\text{сч}} > 0,2 \text{ ч}^{-1}$ при показателях $\text{BCpH } 3-9 \leq 0,08 \text{ моль/л}$ является следствием ложной или истинной фосфатурии.

Ключевые слова: химический состав мочи, мочевого синдрома, эритроцитурия.

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF URINARY SYNDROME

Khomutova K.V.

L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic & Coal Chemistry

R. Luxemburg str., 70, Donetsk, 83114, Ukraine

e-mail:kat.khomutova@gmail.com

Abstract. The finding of erythrocytes of urine is the symptom of a kidney disease. However, the differential diagnosis of isolated hematuria in children is a hard problem. The urine specific gravity, the urine pH level (pH) and titratable acidity are the typical tests, which are suitable in the clinical practice for specification of chemical content of urine. Nevertheless, these indicators can be quite unspecific. In the present study the circadian monitoring of urine pH in the combination with the measurement of urine buffer capacity was carried out for the chemical analysis of urine of patients with isolated hematuria. The goal of the present study was the improvement of differential diagnosis of urinary syndrome.

It was found that crystalluria for patients with the rate of pH change during the day ($\delta\text{pH}_{\text{сч}}$) less than 0.2 h^{-1} when the values of the buffer capacity in the pH range 3-9 ($\text{BCpH } 3-9 \geq 0.12 \text{ mol/l}$) is result of hypercalciuria. In contrast crystalluria for patients with $\delta\text{pH}_{\text{сч}} > 0.2 \text{ h}^{-1}$ and $\text{BCpH } 3-9 \leq 0.08 \text{ mol/l}$ is result of the false or true phosphaturia.

Keywords: chemical composition of urine, urinary syndrome, hematuria.

Введение. Одним из симптомов поражения почек является обнаружение эритроцитов при проведении общего анализа мочи. Однако дифференциальная диагностика изолированной микрогематурии у детей является непростой задачей. Так, согласно работе [1] при плановом обследовании детей в возрасте от 6 до 15 лет микрогематурия выявляется примерно в 2 % случаев. Чаще всего появление эритроцитов в моче связывают с поражением гломерулярного и канальцевого аппаратов, структурными аномалиями почек и нефролитиазом [1-3]. Следует отметить, что проявление дисметаболических нарушений, диагностируемое по появлению кристаллов в моче (кристаллурии), наблюдается при гломерулопатиях и тубуло-интерстициальных поражениях. Принимая во внимание, что любые патологические процессы, протекающие в почках, будут в той или иной степени изменять химический состав мочи, очевидно, что анализ химических изменений в моче позволит уточнить топик поражения. В современной клинической практике среди набора диагностических