

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 ($\delta pH_{сc}$) не выше $0,2 \text{ ч}^{-1}$ при значениях буферной емкости в интервале рН 3-9 ($BCpH \text{ 3-9} \geq 0,12 \text{ моль/л}$) кристаллурия является следствием нарушения выделения кальция, в то время как кристаллурия у пациентов с $\delta pH_{сc} > 0,2 \text{ ч}^{-1}$ при показателях $BCpH \text{ 3-9} \leq 0,08 \text{ моль/л}$ 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 ($\delta pH_{сc}$) less than 0.2 h^{-1} when the values of the buffer capacity in the pH range 3-9 ($BCpH \text{ 3-9} \geq 0.12 \text{ mol/l}$) is result of hypercalciuria. In contrast crystalluria for patients with $\delta pH_{сc} > 0.2 \text{ h}^{-1}$ and $BCpH \text{ 3-9} \leq 0.08 \text{ mol/l}$ 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

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, ранее описанное в работе [4]. Предложенная методика была дополнена измерением значений буферной емкости мочи у пациентов с изолированной гематурией с целью усовершенствования дифференциальной диагностики мочевого синдрома.

Материалы и методы. В исследовании принимало участие 26 детей в возрасте от 3 до 17 лет с изолированной эритроцитурией и кристаллурией. Среди обследуемых детей было 12 девочек и 14 мальчиков. Клинические исследования проводились на базе детской клинической больницы, химический анализ мочи проводился в Институте физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко, г. Донецка. Детям было проведено нефрологическое обследование - общий анализ мочи, проба по Нечипоренко, проба по Зимницкому, культуральное исследование мочи, ультразвуковая диагностика (УЗИ) почек и мочевого пузыря.

рН-мониторирование. В качестве специальных химических методов обследования было использовано суточное мониторирование рН мочи. Его проводили с помощью портативного рН-метра Ezodo (Тайвань) или тест-полосок фирмы рНion Balance (США). В качестве контролируемых параметров были использованы: среднесуточное значение рН мочи (рН_{сс}) и рассчитанная величина - скорость изменения рН мочи в течение суток (δрН_{сс}):

$$\delta p H_{cc} = \frac{\sum_{i=1}^{n-1} |\Delta p H_i|}{n} \cdot \Delta t_i,$$

где δрН_{сс} – скорость изменения рН мочи; ΔрН_і – разность между двумя соседними измерениями рН; Δt_і – разница во времени между двумя соседними измерениями рН (в часах).

Измерение буферной емкости мочи. Буферные свойства мочи были изучены на образцах утренней мочи методом потенциометрического титрования. Титрование образцов мочи проводилось на рН метре И160-МИ (Россия) с использованием калиброванных растворов 0,1 М NaOH и HCl. Количественно буферные свойства выражали через буферную емкость (БЕ), рассчитанную по формуле:

$$\beta = \frac{C_{a(b)} \cdot \Delta V}{\Delta p H \cdot V_T},$$

где C_{a(b)} – молярная концентрация титранта (кислоты или щелочи); V_T – объем исходного образца мочи (в мл); ΔV – объем добавленного титранта (в мл); ΔрН – соответствующее изменение рН раствора. Исследование буферной емкости проводилось в диапазоне рН от 3-9 и в диапазоне 6-8. В указанных интервалах путем интегрирования зависимости буферной емкости от рН рассчитывали суммарное значение буферной емкости. Интегрирование проводилось по методу Симпсона.

Исследование химического состава осадка мочи. Химический состав кристаллического осадка в моче, в случае его значительного содержания, проводился методом инфракрасной спектроскопии на инфракрасном спектрофотометре FT/IR-4200 (Япония). В качестве матрицы использовался KBr.

Биохимические исследования. Проведен кальций – креатининовый тест (исследование уровня кальция (Ca) и креатинина (Cr) мочи до и после нагрузки глюконатом кальция), а также были измерены концентрации фосфора (P_i) и кальция (Ca) в разовой моче. Определение концентрации фосфора, креатинина и кальция проводились стандартными спектрофотометрическими методами.

На основании клиническо-лабораторных и инструментальных данных диагностированы: дисметаболическая нефропатия (ДМН) 12 детей – в случае только микрогематурии и кристаллурии; хронический гломерулонефрит (ХГН) – 8 детей; поликистоз почек – 2 ребенка; тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН) – 2 ребенка; состояние после перенесенного гемолитико-уремического синдрома (ГУС) – 1 ребенок; волчаночный нефрит (ВН) – 1 ребенок.

Полученные результаты химических и биохимических измерений были обработаны методами кластерного анализа и непараметрической статистики. Уровень значимости статистических различий соответствовал 0,05. Статистическая обработка данных была проведена с использованием программного обеспечения Statistica 5.

Обсуждение результатов. В отличие от многих биологических жидкостей химический состав мочи является наиболее приближенным к истинным растворам. Согласно [5] суточные варьирования рН мочи обусловлены периодическими и/или аperiodическими изменениями активной концентрации ионов водорода и многих других химически активных частиц мочи, что в конечном итоге, формирует в моче такие условия среды, которые препятствуют патологической биоминерализации. В качестве примера на рисунке 1 приведены зависимости буферной емкости мочи. Из приведенного рисунка видно, насколько быстро и значительно меняются буферные свойства мочи в течение суток, что, в свою очередь, наглядно иллюстрирует разнообразие кислотно-основных взаимодействий в ней.

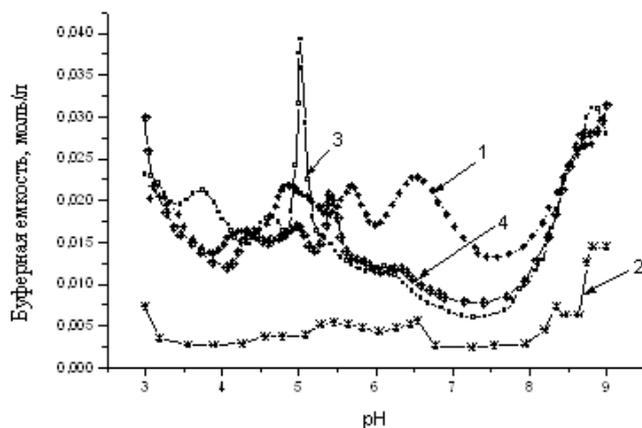


Рисунок 1 – Изменение буферной ёмкости мочи в течение суток. 1 – 7,30 ч, $pH_0 = 5,15$; 2 – 8,30 ч, $pH_0 = 4,95$; 3 – 12,00 ч, $pH_0 = 6,45$; 4 – 15,00 ч, $pH_0 = 5,00$; 5 – 16,00 ч, $pH_0 = 5,35$

Из рисунка 1 также видно, что максимальную буферную емкость имеет утренняя порция мочи. Моча содержит достаточно большое количество буферных систем. К ним относятся такие ди- и трикарбоновые органические кислоты, как лимонная, щавелевая, яблочная, мочева и прочие кислоты, фосфатно-карбонатные буферные системы, а так же аммиак. Так, согласно значениям констант диссоциации, ди- и трикарбоновые органические кислоты и мочева кислота, формируют буферные свойства мочи в интервале pH 4-6, буферные системы состоящие из фосфат и карбонат-ионов имеют максимальную буферную емкость при pH 6-8, в то время как аммиак, формирует буферные свойства мочи в интервале pH 8-9. Таким образом, следует ожидать, что патологические состояния почки, возникшие в результате многообразных факторов должны влиять на формирование буферных свойств мочи и соответственно на колебание pH мочи в течение суток. Кроме того, принимая во внимание, что моча представляет собой пересыщенный раствор, то нарушения в выделительной функции почки будут увеличивать вероятность образования осадка, состоящего из малорастворимых солей. В основном к ним относят соли кальция с фосфат- и оксалат-ионами, а также мочева кислота и ее соли. Следовательно, возникает необходимость дифференциации кристаллурии, связанной с метаболическими нарушениями от глубокого поражения канальцевого аппарата почки в результате инфекционных, аллергических и патофизиологических факторов. Поэтому существует необходимость поиска путей совершенствования дифференциальной диагностики изолированного мочевого синдрома.

В группе пациентов с изолированным мочевым синдромом был проведен кластерный анализ четырех новых, ранее не использованных в клинической практике параметров мочи: $pH_{сс}$, $\delta pH_{сс}$, BE_{pH3-9} , BE_{pH6-8} , а так же широко используемый клинический показатель микроскопии осадка мочи – тип кристаллурии. Результаты кластерного анализа приведены в таблице 1.

Согласно результатам кластерного анализа исследуемая общая выборка больных может быть разделена на две группы. Первая группа характеризуется достоверно ($p = 0,02$) низкими по сравнению со второй группой значениями среднесуточных pH и высокими значениями буферной емкости, что указывает на значительное содержание в их моче различных буферных систем, том числе и органических кислот. При этом следует отметить, что скорость изменения pH в течение суток во второй группе примерно в два раза выше. Что касается показателей кристаллурии, то в первой группе тип кристаллурии пропорционально представлен солями мочева и щавелева кислота. В то время как во второй группе дополнительно диагностировался еще и фосфатный тип кристаллурии. Таким образом, согласно результатам кластерного анализа, больные, отнесенные в группу 1, в 75 % случаев имеют значение $pH_{сс}$ не выше 6,25, амплитуда колебания pH их мочи в течение суток не превышает значений $0,2 \text{ ч}^{-1}$, а также высокие показатели BE во всех исследуемых интервалах pH. В то время как для пациентов, вошедших в группу 2, среднесуточные показатели pH мочи варьируют от 6,2 и выше, а амплитуда колебаний pH в течении суток ($\delta pH_{сс}$) выше $0,2 \text{ ч}^{-1}$ при показателях буферной емкости мочи не выше, чем 0,08 моль/л в интервале pH 3 - 9. Кроме того, у пациентов группы 2 выраженная эритроцитурия встречается в 46 % случаев, в то время как среди пациентов группы 1 эритроцитурия выявляется в 35 % случаев. Аналогичная ситуация складывается при анализе встречаемости лейкоцитурии. Так для пациентов первой группы повышенное содержание лейкоцитов диагностировалось лишь в 8 % случаев, в то время как во второй группе лейкоцитурия определялась у 23 % пациентов, что согласуется с увеличением процента встречаемости бактерии во второй группе. И вместе с тем следует отметить отсутствие статистически значимых различий в показателях плотности мочи пациентов первой и второй группы. Полученные результаты указывают, что концентрационная функция почки, согласно результатам пробы мочи по Зимницкому у пациентов первой и второй группы, практически не нарушена. Интересно также отметить, что согласно клиническим диагнозам, в первую группу вошли в основном пациенты с дисметаболическаой нефропатией (61 %), в то время как вторую группу - с хроническим гломерулонефритом (50 %). При этом у 46 % пациентов второй группы среди сопутствующих заболеваний была выявлена вирусная инфекция и атопический дерматит. Полученные результаты указывают, что проведение суточного мониторинга pH мочи совместно с

определением буферной емкости утренней порции мочи могут быть успешно применены как дополнительный инструментальный прием для выявления степени нарушения выделительной функции почки.

Таблица 1 – Значения медианы, 25 % и 75 %, процентилий анализируемых показателей

Показатель	Группа 1 (n = 14)	Группа 2 (n = 12)	p уровень
Основной диагноз	ДМН (61 %); ХГН (15 %); поликистоз почек (8%); ТИН (8 %); ВН (8 %)	ДМН (34 %); ДМН + ХГН (35 %) ХГН (15 %); поликистоз почек (8 %); ГУС (8 %)	
Сопутствующий диагноз	Вирусная инфекция – 7 %, атопический дерматит – 1,3 %	Вирусная инфекция и атопический дерматит – 46 %	
pНсс	6,15 (Q _{25%} =5,93; Q _{75%} =6,25)	6,60 (Q _{25%} =6,19; Q _{75%} =6,91)	0,019
δpНсс, ч ⁻¹	0,13 (Q _{25%} =0,08; Q _{75%} =0,19)	0,25 (Q _{25%} =0,09; Q _{75%} =0,31)	0,067
БЕ (рН 6-8), моль /л	0,048 (Q _{25%} =0,044; Q _{75%} =0,068)	0,023 (Q _{25%} =0,020; Q _{75%} =0,031)	0,000023
БЕ (рН3-9), моль /л	0,124 (Q _{25%} =0,117; Q _{75%} =0,160)	0,077 (Q _{25%} =0,067; Q _{75%} =0,082)	0,000029
ВЕ (рН 4-7), моль /л	0,068 (Q _{25%} =0,056; Q _{75%} =0,092)	0,034 (Q _{25%} =0,029; Q _{75%} =0,039)	0,000022
Фосфор, ммоль /л	24,7 (Q _{25%} =16,2; Q _{75%} =43,1)	25,0 (Q _{25%} =18,0; Q _{75%} =46,2)	0,750
Кальций, ммоль /л	3,6 (Q _{25%} =1,8; Q _{75%} =5,8)	2,8 (Q _{25%} =1,3; Q _{75%} =4,5)	0,524
Кальций/креатинин (до нагрузки)	0,26 (Q _{25%} =0,2; Q _{75%} =0,36)	0,20 (Q _{25%} =0,15; Q _{75%} =0,69)	0,663
Кальций/креатинин (после)	0,32 (Q _{25%} =0,26; Q _{75%} =1,18)	0,31 (Q _{25%} =0,18; Q _{75%} =0,59)	0,402
Плотность мочи по Зимницкому: Макс. отн.плот. Мин. отн. плот.	1020(Q _{25%} =1015; Q _{75%} =1023) 1006(Q _{25%} =1003; Q _{75%} =1008)	1019(Q _{25%} =1014; Q _{75%} =1022) 1005(Q _{25%} =1003; Q _{75%} =1008)	0,507 0,030
Кристаллурия	Оксалаты (50 %); мочевая кислота и ее соли (50 %)	Оксалаты (53 %); мочевая кислота и ее соли (41 %), фосфаты (6%)	
ИК-осадка	n = 5 60% кальция фосфаты, 40 % соли мочевой кислоты	n = 4 25 % - кальция оксалаты, 25 % - соли мочевой кислоты, 50 % кальция фосфаты	
Эритроцитурия (> 10 в поле зрения)	35 %	46 %	
Лейкоцитурия (> 30)	8%	23 %	
Титр бактерий в моче (> 100 000)	39 %	46%	
УЗИ почек	Поликистоз 8 %	Эхо-включения 15%, конкременты - 16 %, поликистоз и увеличение почки – 15 %	

Вместе с тем хотелось бы отметить, что кристаллурия одинаково часто встречается как в группе 1, так и в группе 2. Согласно результатам ИК-спектроскопического анализа, основным типом выпадающих солей являются соединения кальция фосфата – в 50-60 % случаев. Соли мочевой кислоты образуют значительный осадок в моче примерно в 40 % случаев. Если говорить же об оксалате кальция, то частота встречаемости таких случаев в исследуемой группе больных оказалась крайне малой. Таким образом, можно сделать вывод, что основной причиной кристаллурии у детей является пересыщение мочи по ионам кальция и фосфора. При этом следует отметить, что содержание кальция и фосфора в моче исследуемых групп пациентов достоверно не отличается.

Согласно работе [6] гиперкальциурия диагностируется, если значение отношения концентрации кальций / креатинин в разовой моче даже без дополнительной нагрузки глюконатом кальция больше 0,2. Согласно результатам расчета значений отношения кальций / креатинин в группе 1, количество детей со значением

отношения кальций / креатинин больше 0,2 составляет 58 %, а группе 2-50 %. Полученные результаты указывают, что кристаллурия, вызванная образованием солей кальция фосфата, одинаково часто встречается для детей первой и второй исследуемых групп. Это согласуется с ранее приведенными результатами сравнения концентраций кальция и фосфора в разовой моче пациентов групп 1 и 2.

Известно, что образование солей кальция фосфата, может происходить как в случае гиперкальциурии, так и в случае фосфатурии. В наших исследованиях была проанализирована взаимосвязь между результатами суточного рН мониторинга мочи и выделением кальция и фосфора путем корреляционного анализа. Результаты анализа приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи между показателями фосфора, кальция и буферной емкостью мочи, амплитудой колебания рН в течение суток

Корреляционные пары	Группа 1			Группа 2		
	г	р	п	г	р	п
[Ca ²⁺] – БЕ(рН6-8)	0,564	0,083	11	0,191	0,574	11
[Pi] – БЕ(рН6-8)	0,025	0,938	12	0,768	0,016	9
[Ca ²⁺] - δрНсс	0,104	0,764	9	0,195	0,591	10
[Pi] - δрНсс	0,107	0,745	12	0,780	0,008	10

Оказалось, что в группе 1 зависимость между δрНсс и концентрацией фосфора в моче отсутствует. В то же время, как в группе 2 существует линейная зависимость между скоростью изменения рН в течение суток и концентрацией фосфора. В этой же группе буферная емкость утренней мочи при рН 6-8 увеличивается пропорционально концентрации фосфора. Интересно, что в первой группе буферная емкость при рН 6-8 увеличивается пропорционально концентрации кальция. Таким образом, у пациентов с δрНсс не выше 0,2 ч⁻¹ при значениях БЕ более 0,117 моль/л в интервале рН 3-9 кристаллурия является следствием нарушением выделения кальция. Для пациентов с δрНсс > 0,2 ч⁻¹ при показателях буферной емкости мочи не выше, чем 0,077 моль/л в интервале рН 3-9, кристаллурия является вторичным фактором, и вызвана, скорее всего, патофизиологическими нарушениями, что приводит к ложной или истинной фосфатурии.

Выводы. Проведение суточного мониторинга рН мочи совместно с определением буферной емкости утренней порции мочи может быть успешно применено в клинической практике как дополнительный инструментальный прием для усовершенствования дифференциальной диагностики мочевого синдрома. Кроме того, удалось сформировать критерии ведущих факторов кристаллурии. Так, у пациентов с δрНсс не выше 0,2 ч⁻¹ при значениях БЕ ≥ 0,12 моль /л в интервале рН 3-9 кристаллурия является следствием нарушением выделения кальция, в то время как кристаллурия у пациентов с δрНсс > 0,2 ч⁻¹ при показателях буферной емкости мочи не выше, чем 0,08 моль/л в интервале рН 3-9 является ложной или истинной фосфатурией.

Список литературы / References:

1. Meyers K.E.C. Evaluation of hematuria in children. *Urol Clin N Am*, 2004, vol. 31, pp. 559-573.
2. Halachmi S., Kakiashvili D., Meretyk S. A. Review on Hematuria in Children. *The Scientific World J.*, 2006, vol. 6, pp. 311-317.
3. Tu W.H., Shortliffe L.D. Evaluation of asymptomatic, atraumatic hematuria in children and adults. *Urology*, 2010, vol. 7, pp. 189-194.
4. Bilobrov V.M., Chugaj A.V., Bessarabov V.I. Urine pH Variation Dynamics in Healthy Individuals and Stone Formes. *Urol. Intern.*, 1990, vol. 50, pp. 326-331.
5. Cameron M.A., Baker L.A., Maalouf N.M., Moe O.W., Sakhaee K. Circadian variation in urine pH and uric acid nephrolithiasis risk. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, vol. 22, pp. 2375-2378.
6. Parekh D.J., Pope J.C., Adams M.C., Brock J.W. The association of an increased urinary calcium-to-creatinine ratio, and asymptomatic gross and microscopic hematuria in children. *The J. of Urol.*, 2002, vol. 167, pp. 272-274.