

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ ГЕМАТУРИИ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

С.Н. Мамаева¹, Г.В. Максимов², Я.А. Мунхалова¹, И.В. Кононова³,
Ф.А. Захарова¹, И.Н. Николаев¹, А.Н. Павлов¹, А.Л. Федоров⁴

¹ Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова

² Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

³ ООО "ИРВЕКО".

⁴ Институт проблем нефти и газа Сибирского отделения РАН

Методом ИК-спектроскопии исследовали образцы крови детей с острым и хроническим гломерулонефритом, геморрагическим васкулитом, с тубулоинтерстициальным нефритом, IgA-нефропатией. Анализ результатов исследования свидетельствует о существенных изменениях параметров ИК-спектров (соотношение амплитуды пиков, площадей) образцов крови в зависимости от видов заболеваний почек с синдромом макрогематурии. Кроме того, ИК-спектроскопия крови позволяет оценить вклад определенных колебаний молекул в крови (например, альбумин или гемоглобин) и более четко охарактеризовать химические изменения при патологии. В связи с этим мы предлагаем использовать метод ИК-спектроскопии для разработки менее затратной и неинвазивной диагностики почечных заболеваний.

Ключевые слова: *кровь, гематурия, ИК-спектроскопия, дети, дифференциальная диагностика*

Введение

В настоящее время большое внимание уделяется разработке персонализированных методов диагностики и терапии редких и сложно диагностируемых заболеваний. В области детской нефрологии существует проблема диагностики различных видов нефропатий, для которых гематурия может быть единственным симптомом заболевания почек и мочевыводящих путей [1, 2].

Отметим, что из-за недостаточного изучения причин возникновения заболеваний с синдромом гематурии они до сих пор не диффе-

ренцированы по клиническим параметрам. В настоящее время основным методом диагностики этих патологий является морфологическое исследование биоптата почки – биопсия почки. Необходимость формирования новой неинвазивной методологии диагностики обусловлена тем, что нефробиопсия, может привести к ошибочной трактовке, осложнениям при операции, а также ростом почечной патологии не только среди детей в Республике Саха (Якутия), но и во всем мире [3–5], а метод биопсии почки, несмотря на его совершенствование, по-прежнему не применяется для широко-

го круга пациентов, так как сопряжен с определенными рисками.

Целью данной работы является выявление параметров ИК-спектров образцов крови различных видов гломерулонефритов, нефропатий с синдромом гематурии, которые могут быть использованы для формирования неинвазивных методов диагностики и проведения мониторинга течения заболеваний почек с синдромом гематурии для корректировки лечения.

Материал и методы

Материалом исследования являются неокрашенные сухие мазки венозной крови детей в возрасте от 8 до 18 лет, проходивших лечение в нефрологическом отделении Центра охраны материнства и детства Республиканской больницы № 1, нанесенные на предметное стекло, и контрольной группы, состоящей из студентов первого курса СВФУ имени М.К. Аммосова и школьников г. Якутска без заболевания почек. В данном исследовании впервые были получены ИК-спектры мазков крови детей и подростков с синдромом макрогематурии при хроническом гломерулонефрите ($n=4$), остром гломерулонефрите ($n=7$) и IgA-нефропатии ($n=8$), тубулоинтерстициальном нефрите ($n=2$), геморрагическом васкулите ($n=2$). В ходе исследования установлено, что полученные данные ИК-спектроскопии можно использовать уже через 3–5 мин, что является немаловажным фактором для своевременной постановки диагноза.

Спектральный анализ мазков крови проводился с помощью ИК-спектрометра Varian 7000 FT-IR (USA) (волновой диапазон 4000–400 см^{-1} с разрешением 2 см^{-1}) методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в учебно-научно-технологической лаборатории “Технологии полимерных наноконструктивных материалов” парка оборудования Центра коллективного пользования Арктического инновационного центра Многоотраслевого научно-инновационного образовательного комплекса СВФУ им. М.К. Аммосова [6].

Результаты и обсуждение

Сопоставление ИК-спектров при различных заболеваниях и контрольной группы показало, что существенные различия формы ИК-спектров наблюдаются в диапазоне волновых чисел от 3600 до 2700 см^{-1} , которым соответ-

Таблица 1
Количество обследованных детей по видам нефропатий и контрольной группы

№	Наименование заболеваний	Количество обследованных детей
1	IgA-Нефропатия	8
2	Геморрагический васкулит	2
3	Острый гломерулонефрит	7
4	Тубулоинтерстициальный нефрит	2
5	Хронический гломерулонефрит	4
6	Контрольная группа	21
Итого		44

ствуют валентные колебания (N–H) первичных аминов и амидов и ($\equiv\text{CH}$) монозамещенных ацетиленов, а также в области волновых чисел от 1700 до 900 см^{-1} , основные пики которых показывают наличие валентных колебаний $-\text{C}=\text{C}-$, $\text{C}=\text{N}$ и $\text{C}=\text{C}-$ связей (рис. 1). Как следует из представленных ИК-спектров образцов крови, при различных почечных заболеваниях с макрогематурией интенсивность этих колебаний молекул больше, чем в контрольной группе.

Максимальные изменения ИК-спектров выявлены у детей с IgA-нефропатией: в диапазоне больших волновых чисел 3330–2800 см^{-1} . Например, в пике 3286 см^{-1} различие амплитуды по сравнению с контрольной группой выше чем в 1,8 раза (рис. 1). Также установлено, что амплитуда полосы 1650 см^{-1} ИК-спектра у детей с IgA-нефропатией в 1,1 раз больше, при остром гломерулонефрите – в 0,86 раза и при хроническом гломерулонефрите в 0,87 раза выше по сравнению с контролем.

Для диагностики и дифференцировки различных видов почечных заболеваний с помощью ИК-спектроскопии мы использовали Γ -параметр:

$$\Gamma = H_{\text{пат}}/H_{\text{норм}},$$

где $H_{\text{пат}}$ – средняя глубина пика спектра для определённого волнового числа при патологии; $H_{\text{норм}}$ – средняя глубина пика спектра образца крови из контрольной группы (начиная от уровня 100 %).

На рис. 2 представлены графики зависимости Γ -параметра от волнового числа при различных заболеваниях: IgA-нефропатии, остром

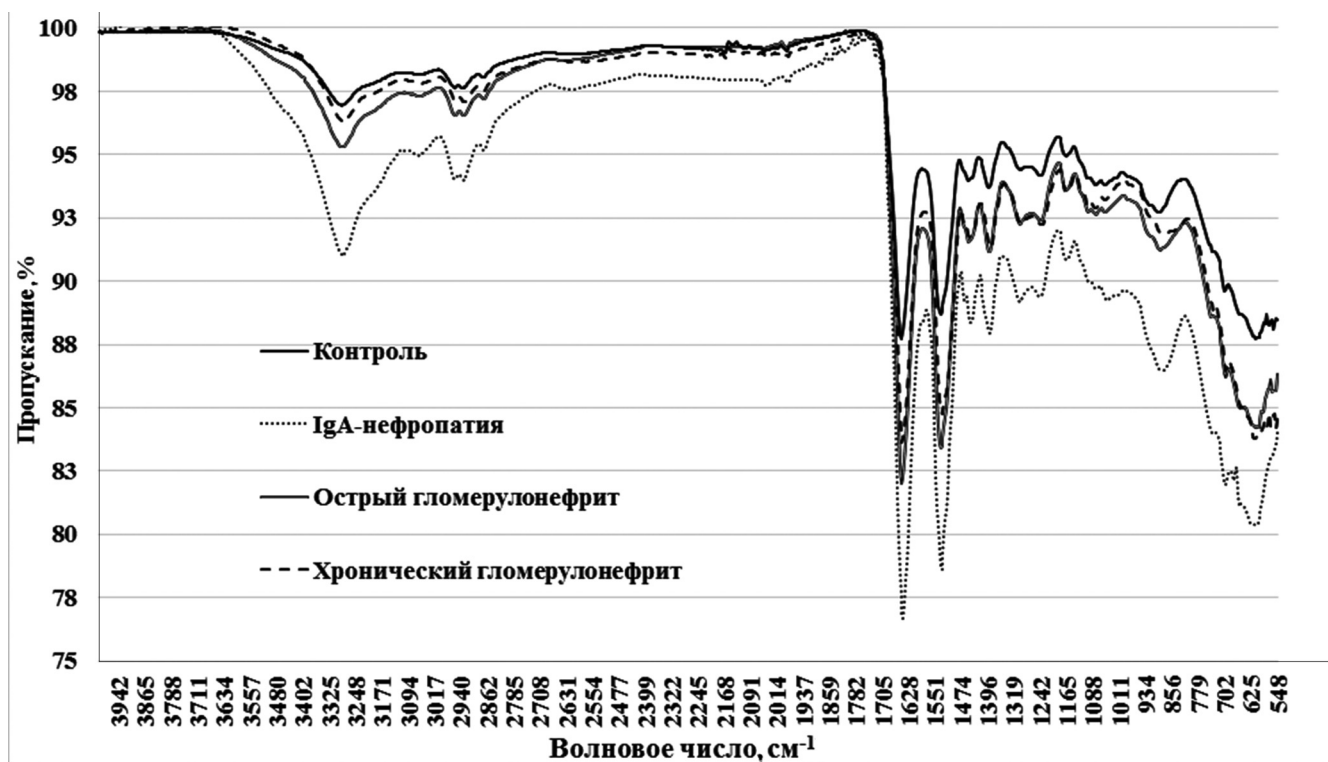


Рис. 1. ИК-спектры пропускания мазков крови больных и контрольной группы

и хроническом гломерулонефритах в спектрах пропускания ИК-излучения.

Анализ значений Γ -параметров свидетельствует о том, что максимальное значение Γ наблюдается при хроническом гломерулонефрите, а наименьшее значение – при IgA-нефропатии.

Далее мы рассчитывали $\Gamma_{\text{пат}}$ -параметры, определяющие отношения глубин пиков спектров пропускания ИК-излучения при различных заболеваниях:

$$\Gamma_{\text{пат}} = H_i^{\text{пат}} / H_j^{\text{пат}},$$

где $H_i^{\text{пат}}$ – средняя глубина пика спектра для определённого волнового числа при i -патологии; $H_j^{\text{пат}}$ – средняя глубина пика спектра для определённого волнового числа при j -патологии.

На рис. 3 представлены графики зависимости $\Gamma_{\text{пат}}$ – отношения пиков интенсивностей полос в спектрах пропускания ИК-излучения различных патологиях почек и при IgA-нефропатии.

Кроме Γ -параметра, также были получены A -параметры в виде отношения площадей пиков поглощения при различных заболева-

ниях и площадей пиков спектров поглощения контрольной группы и соответственно $A_{\text{пат}}$ -параметры, определяющие отношения площадей пиков спектров пропускания при различных заболеваниях:

$$A = S_{\text{пат}} / S_{\text{норм}},$$

$$A_{\text{пат}} = S_i^{\text{пат}} / S_k^{\text{норм}},$$

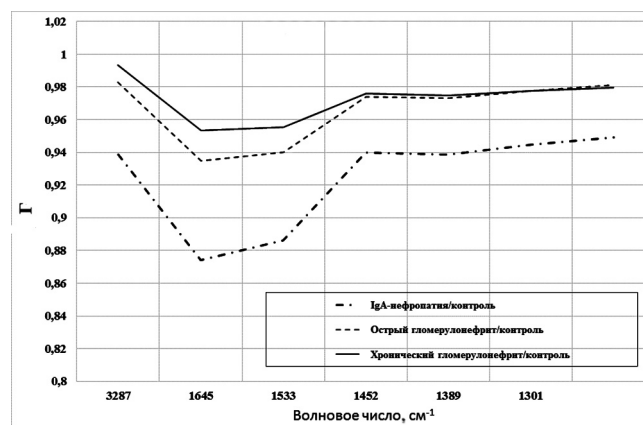


Рис. 2. Зависимость Γ -параметра крови пациентов от волнового числа

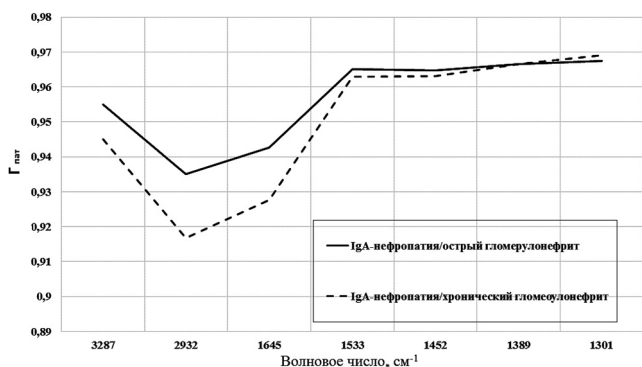


Рис. 3. Зависимость $\Gamma_{пат}$ крови пациентов от волнового числа

В табл. 2 и на рис. 4. представлены полученные величины A -параметра и графики зависимости отношений площадей пиков спектров от волнового числа при различных нефропатиях с макрогематурией и контрольной группы соответственно.

Из полученных данных следует, что максимальные расхождения этого параметра наблюдаются в области волновых чисел 3287 см^{-1} и 1452 см^{-1} , которые могут быть рассмотрены как контрольные значения волновых чисел для определения A -параметра при исследовании и дифференциальной диагностике почечных заболеваний с макрогематурией (рис. 5).

Таким образом, анализ результатов исследования свидетельствует о существенных изменениях параметров ИК-спектров (соотношение амплитуды пиков, площадей) образцов крови в зависимости от видов почечных заболеваний у больных с синдромом макрогематурии. Кроме того, ИК-спектроскопия крови позволяет оценить вклад определенных колебаний

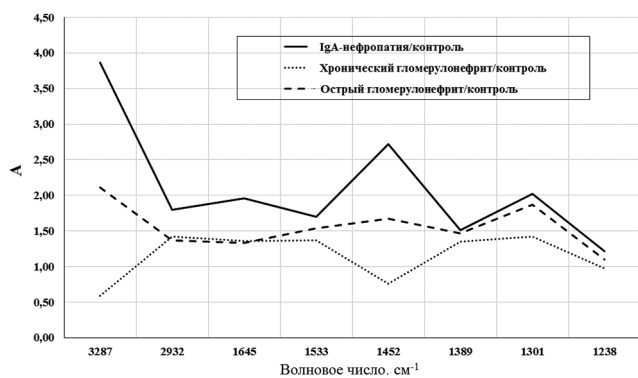


Рис. 4. Зависимость A -параметров ИК-спектров крови пациента от волнового числа

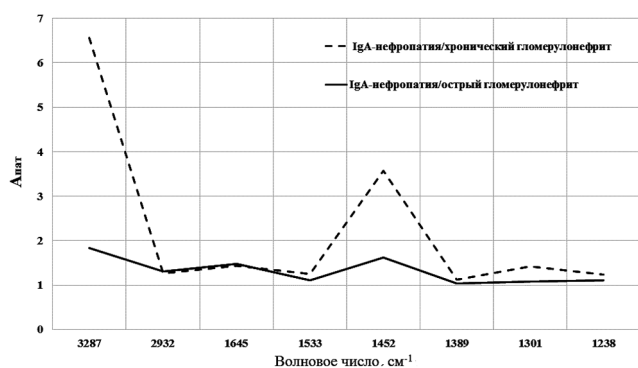


Рис. 5. Зависимость отношений площадей пиков спектров – параметры $A_{пик}$ пациентов от волнового числа

Таблица 2
Значения A -параметров при различных почечных заболеваниях с макрогематурией

Волновое число, см^{-1}	IgA/контроль	Хронический гломерулонефрит/контроль	Острый гломерулонефрит/контроль
3287	3,86	0,59	2,11
2932	1,79	1,42	1,37
1645	1,96	1,36	1,33
1533	1,70	1,37	1,53
1452	2,72	0,76	1,67
1389	1,51	1,35	1,46
1301	2,02	1,42	1,87
1238	1,21	0,98	1,10

молекул в крови (например, альбумин или гемоглобин) и более четко охарактеризовать химические изменения при патологии. В связи с этим мы предлагаем использовать метод ИК-спектроскопии для разработки менее затратной и неинвазивной диагностики почечных заболеваний.

Список литературы

1. Папаян А.В., Соловьев А.А., Стяжкина И.С. IgA нефропатия (болезнь Берже у детей) – СПб.: ГПМА, 2001.
2. Feehally J., Cameron J. S. IgA nephropathy: progress before and since Berger // Amer. J. Kidney Diseases. 2011. Vol. 58. № 2. P. 310–319.
3. Hall Y.N., Fuentes E.F., Chertow G.M., Olson J. L. Race/ethnicity and disease severity in IgA nephropathy // BMC Nephrol. 2004.
4. Мунхалова Я.А., Захарова Н.М., Горохова А.В. Особенности гломерулонефрита, ассоциированного с герпес-вирусной инфекцией // Экология и здоровье человека на Севере: Сб. трудов IV Конгресса с междунар. участием. Под ред. Н. В. Савиной. – Киров: МЦНИП, 2013. С. 405–409.
5. Горохова А.В., Мунхалова Я.А. Результаты морфологического исследования биоптатов почек у детей с хроническими нефропатиями в РС (Я) // Современные проблемы педиатрии: Сб. науч. трудов III съезда педиатров Дальневосточного федерального округа (Якутск, 2014). Под ред. Н.В. Савиной. – Киров: МЦНИП, 2014. С. 116–122.
6. Мамаева С.Н., Максимов Г.В., Антонов С.Р. и соавт. Исследование эритроцитов крови детей с заболеваниями почек с синдромом гематурии методом растровой электронной и атомно-силовой микроскопии // Мед. физика. 2017. № 1(73). С. 58–63.

A STUDY OF THE BLOOD OF CHILDREN WITH HEMATURIA SYNDROME BY IR SPECTROSCOPY

S.N. Mamaeva¹, G.V. Maximov², Ya.A. Munkhalova¹, I.V. Kononova³,
F.A. Zakharova¹, I.N. Nikolaev¹, A.N. Pavlov¹, A.L. Fedorov⁴

¹ M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia

² Biological Faculty of M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ Irvеko Ltd., Yakutsk, Russia

⁴ Institute of Oil and Gas Problems, Yakutsk, Russia

Using IR spectroscopy, the children blood samples during acute and chronic glomerulonephritis, hemorrhagic vasculitis, with tubulointerstitial nephritis, IgA nephropathy, were studied. Analysis of the results of the study indicates significant changes in the parameters of the infrared spectra (the amplitude ratio of the peaks, areas) of blood samples, depending on the types of renal diseases with macromuturia syndrome. In addition, IR-spectroscopy of blood allows to evaluate the contribution of certain molecular vibrations in the blood (eg albumin, or hemoglobin) and more clearly characterize chemical changes in pathology. In this regard, we propose to use the IR spectroscopy method to develop a less costly and non-invasive diagnosis of renal diseases.

Key words: *blood sample, hematuria, IR-spectroscopy, children, differential diagnostic*

E-mail: sargylana_mamaeva@mail.ru