

В.П.Шаповалов, С.Г.Гумінецький, В.П.Пішак, М.М.Кузьмін*

ДОСЛІДЖЕННЯ ОПТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЕЧІ ТА ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ У ПРОЦЕСІ ЇХ ЛІКУВАННЯ

Кафедра шкірно-венеричних хвороб та туберкульозу
Буковинської державної медичної академії
*Чернівецький національний університет ім.Ю.Федьковича

Резюме. Встановлено, що у хворих на легеневу форму туберкульозу з каверноутворенням в інтервалі спектра $\lambda > 260$ нм спостерігаються підвищені значення відносної оптичної густини як у спектрах поглинання сечі, так і в плазмі крові. Обґрунтована можливість використання абсорбційного спектрального аналізу для встановлення абсолютних значень концентрацій сечовини та сечової кислоти в сечі людини. Показано, що значення оптичної густини в інтервалі $\lambda = 285$ нм для сечі і $\lambda = 280$ нм для плазми крові можуть служити певним оптичним тестом для виявлення активності процесу та способом контролю за ефективністю лікування.

Ключові слова: сеча, оптична густина, плазма крові, спектр поглинання, туберкульоз.

Вступ. Сеча та плазма крові людини – складні для досліджень біологічні середовища. Ця складність зумовлена як багатокомпонентністю органічних речовин, так і нестабільністю їх концентрацій протягом доби (особливо для сечі), залежно від індивідуума, загального стану, характеру продуктів харчування тощо. Біохімічними методами встановлено діапазон концентрацій кожної з основних органічних складових сечі та плазми крові.

Відомо [1,2], що основний вклад у спектральне поглинання сечі в інтервалі $\lambda > 260$ нм вносять лише сечовина та сечова кислота, а для плазми крові визначальну роль відіграють спектри поглинання білків, альбумінів та глобулінів.

У даній роботі досліджуються спектри поглинання плазми крові та ранкової порції сечі дорослих хворих на деструктивний туберкульоз легень у спектральному інтервалі $\lambda = 215-350$ нм. Аналізуються їх зміни в процесі стандартного етіопатогенетичного лікування впродовж одного – п'яти місяців.

Мета дослідження. Розглядається можливість використання кількісного абсорбційного спектрального аналізу для визначення концентрації сечовини та сечової кислоти в сечі хворих на легеневий туберкульоз.

Матеріал і методи. Об'єктом досліджень були хворі на деструктивний туберкульоз легень. При рутинних лабораторних дослідженнях у більшості хворих, без супутньої патології з боку нирок, кількість білків у сечі незначна і практично не впливає на її оптичні характеристики. Це суттєво спрощує аналіз сечі як з оптичної, так і з біохімічної точки зору.

Вимірювання спектрів поглинання ранкової порції сечі і плазми крові проводилися на спектрофотометрі СФ-4А з фотометричною сферою і за методикою Guminetsky S.G. et al. [2], яка дає можливість врахувати розсіювання, оскільки досліджувані біологічні середовища є колоїдними розчинами. Розбавлення сечі і плазми крові в дистильованій воді було у співвідношенні 1:100. Досліджувані розчини поміщали у кварцову кювету товщиною 1x1см; вимірювався коефіцієнт пропускання τ , оптична густина розраховувалася за формулою $D = \lg \tau$. Дослідження показали [2], що розведення саме у співвідношенні 1:100 є оптимальним щодо вимірних значень оптичної густини (в межах від 0,05 до 1,5), при яких забезпечується найбільша точність вимірів при $\lambda < 320$ нм. Згідно з отриманими результатами основний внесок у значення D в короткохвильовому максимумі вносить сечовина (на всі інші органічні складові припадає ~ 1,5% від сумарної оптичної густини). Тому розкид вимірних значень оптичної густини для різних пацієнтів при $\lambda = 235$ нм пояснюється саме тим, що концентрація сечовини у них різна. Тому, щоб оцінити реальний внесок у сумарну оптичну густина сечі в інтервалі $\lambda > 250$ нм сечової кислоти в кожному конкретному випадку вигідно нормувати ці спектри на значення оптичної густини в короткохвильовому максимумі при $\lambda \approx 230-240$ нм. У зв'язку з цим, у подальшому при аналізі спектрів поглинання сечі різних пацієнтів використовували лише нормовані спектри.

Результати дослідження та їх обговорення. У попередній роботі [1] досліджені спектри поглинання альбумінів та глобулінів як основних органічних складових, що визначають спектр поглинання плазми крові людини. Встановлено, що в інтервалі $\lambda \approx 280$ нм значення D визначається, в основному, поглинанням глобулінів, в той час як в інтервалі $\lambda \approx 220-230$ нм – сумарною концентрацією всіх білків. Саме такі спектри її поглинання на значення D у короткохвильовому максимумі і будуть аналізуватися в подальшому.

На рис. 1 (для сечі) і на рис. 2 (для крові) наведені спектри поглинання для трьох хворих на легеневу форму туберкульозу до лікування в порівнянні з контрольними спектрами поглинання (криві 1) для здорової людини.

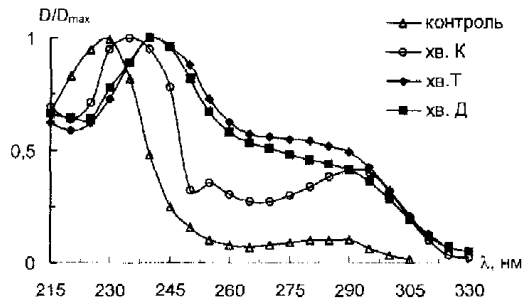


Рис.1. Спектри поглинання добових проб сечі пацієнтів К., Т., Д., хворих на туберкульоз легень.

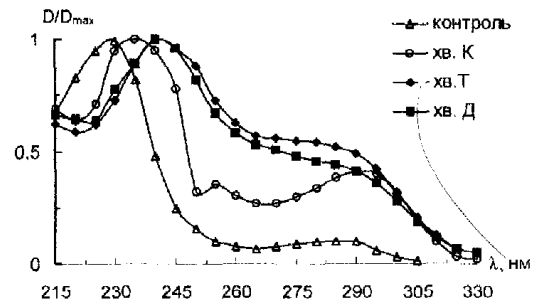


Рис.2. Спектри поглинання плазми крові пацієнтів М-к, М-н, М-р, хворих на туберкульоз легень.

З рис. 1 видно, що оптична густина проб сечі в спектральному інтервалі $\lambda=265-295$ нм для всіх трьох хворих є значно вищою порівняно з контролем. Оскільки основний вклад у цьому спектральному інтервалі в значення оптичної густини вносить поглинання сечової кислоти, то це означає, що у пацієнтів у сечі або підвищується концентрація сечової кислоти, або підвищується її частка в сумарному вмісті сечовини і сечової кислоти. При цьому видно, що для різних осіб до лікування цей ефект виражений різною мірою: криві 2, 3, 4 на рис. 1 також відрізняються між собою. Подібна картина спостерігається і в спектрах поглинання плазми крові, але ця аналогія тільки зовнішня. У дійсності причина відмінностей між спектрами D для плазми крові (рис. 2) має зовсім іншу природу і пояснюється тим, що у хворих на туберкульоз суттєво змінюється значення альбумін/глобулінового коефіцієнта. Дані клінічних досліджень біохімічними методами вказують на те, що у здорових людей цей коефіцієнт знаходиться в межах 1,8-2,0, а у хворих на туберкульоз - значно нижчий, що свідчить про зростання частки глобулінів у сумарному вмісті білків у плазмі і призводить відповідно до підвищення значень D/D_{max} порівняно з контрольною кривою 1. При цьому до лікування для кожного з пацієнтів змінюється альбумін/глобулінового коефіцієнта є різною: криві 2, 3, 4, в інтервалі спектра $\lambda=265-295$ нм відрізняються між собою.

Спектри поглинання сечі та плазми крові хворих на туберкульоз легень у процесі їх лікування дозволяють проводити дослідження через певні інтервали, контролюючи зміни оптичних густин. На рис.3,4 (для сечі) та на рис.5,6 (для плазми крові) представлені нормовані спектри поглинання для двох пацієнтів, отримані до лікування (криві 1) і через місяць після його початку (криві 2), а для сечі – через п'ять місяців терапії (криві 3).

Видно, що в усіх випадках в інтервалі $\lambda>265$ нм відносна оптична густина зменшується, що можна пояснити зміною співвідношення між сечовою кислотою і сечовиною у сечі і між вмістом глобулінів та альбумінів у плазмі крові. В той же час із порівняння кривих рис.3 – 6 з кривими 1 на відповідних рисунках 1 і 2 для контрольнього зразка видно, що хоча після місячного лікування величина D/D_{max} зменшилася, проте вона ще далека від норми для сечі і для плазми крові здорової людини. Після лікування протягом п'яти місяців цей показник у більшості випадків для сечі ще більше наближається до контрольнього зразка.

Аналогічні результати отримані і для інших 12 пацієнтів, зразки плазми крові і сечі яких були представлені для досліджень. З метою узагальнення результатів достатньо порівняти значення відносних оптичних густин для однієї найбільш характерної довжини хвилі. Виходячи з наведених вище графіків, вибираємо для сечі $\lambda=285$ нм, а для плазми крові $\lambda=280$ нм.

Наведений у таблицях цифровий матеріал по групі більше 10 пацієнтів повністю підтверджує висновки зроблені вище з графіків. Виняток становить пацієнт М. для сечі та пацієнт Ч. для плазми крові. Крім того, з таблиць видно, що зменшення значень D/D_{max} після місячного лікування є різним у кожного з пацієнтів, що є особливою рисою індивідуума або говорить про ефективність лікування.

У таблиці 1 наведені значення D/D_{max} для сечі чотирьох пацієнтів після п'яти-місячного лікування. Видно, що у двох із них спостерігається подальше зменшення цієї величини, але у решти вона практично не змінюється.

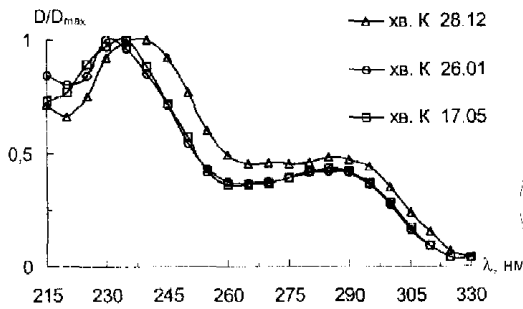


Рис.3. Спектри поглинання сечі К. хворого на туберкульоз легень залежно від терміну лікування.

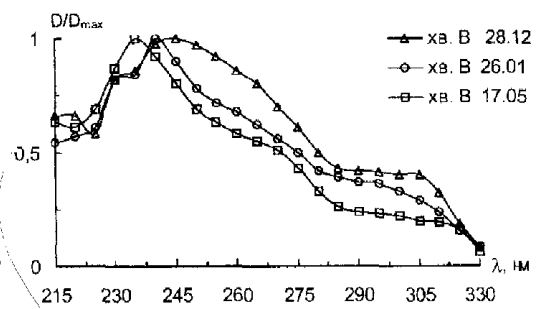


Рис.4. Спектри поглинання сечі В. хворого на туберкульоз легень залежно від терміну лікування.

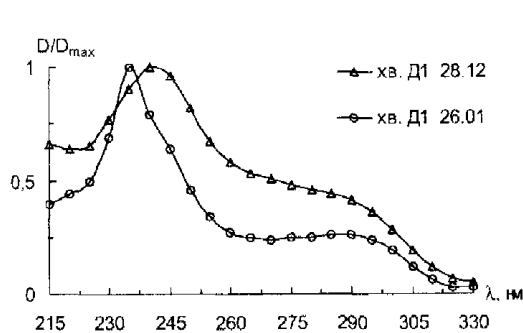


Рис.5. Спектри поглинання плазми крові Д. хворого на туберкульоз легень залежно від терміну лікування.

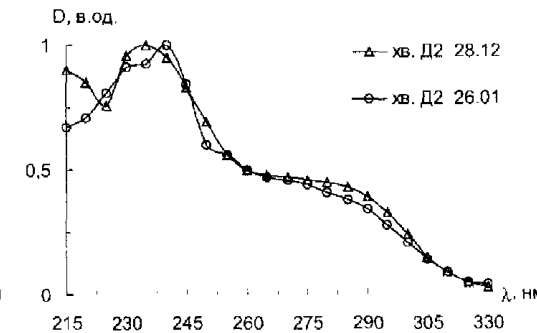


Рис.6. Спектри поглинання плазми крові хворого на туберкульоз легень залежно від терміну лікування.

Таблиця 1

Значення D/D_{max} сечі хворих на туберкульоз легень для $\lambda = 285$ нм (Контрольне значення 0,1)

Час обстеження	Хворі											
	К.	В.	У.	Д.	К.	Д.	С.	К.	Т.	В.	Ч.	М.
До лікування	0,48	0,44	0,38	0,43	0,46	0,44	0,42	0,38	0,52	0,46	0,33	0,33
Після одного місяця лікування	0,42	0,39	0,34	0,38	0,44	0,26	0,28	0,28	0,36	0,26	0,3	0,39
Після п'яти місяців лікування	0,43	0,26			0,27			0,30				

Таблиця 2

Значення D/D_{max} плазми крові хворих на туберкульоз легень для $\lambda = 280$ нм (Контрольне значення 0,26)

Час обстеження	Хворі											
	К.	В.	У.	Д.	К.	Д.	С.	К.	С.	В.	Ч.	
До лікування	0,43	0,48	0,45	0,46	0,42	0,42	0,44	0,47	0,53	0,42	0,43	
Після одного місяця лікування	0,37	0,44	0,37	0,32	0,39	0,33	0,37	0,34	0,44	0,37	0,43	

Ми застосували спектрофотометричний метод визначення концентрації сечовини і сечової кислоти в сечі хворих на туберкульоз легень

Для проведення аналізу сечі розглядаємо двокомпонентне наближення: сечовина – сечова кислота. Використаємо при цьому спектральні залежності величини екстинкції цих компонент, які наведені на рис. 7 і побудовані на основі наших даних роботи [2]. Із рис. 7 видно, що аналітичними довжинами хвиль можуть бути $\lambda=230$ нм (для сечовини) та $\lambda = 290$ нм (для сечової кислоти).

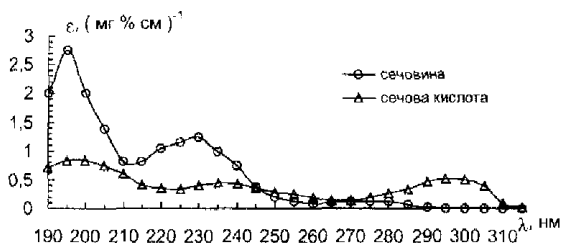


Рис.7. Спектри поглинання основних органічних складових сечі людини.

Розв'язуючи систему рівнянь (1), одержуємо:

$$C_c = \frac{\epsilon_{1,ck} D_{\lambda_1} - \epsilon_{2,ck} D_{\lambda_2}}{\epsilon_{1,ck} \epsilon_{2,c} l - \epsilon_{2,ck} \epsilon_{1,c} l} \quad (2)$$

$$C_{ck} = \frac{D_{\lambda_1} \epsilon_{1,ck} \epsilon_{1,c} D_{\lambda_2} - \epsilon_{2,ck} \epsilon_{1,c} D_{\lambda_1}}{\epsilon_{1,ck} l \epsilon_{1,c}^2 \epsilon_{2,c} l - \epsilon_{1,c} \epsilon_{1,ck} \epsilon_{2,ck} l} \quad (3)$$

Використовуючи ці формули, можна розрахувати концентрації сечовини і сечової кислоти в реальному біологічному середовищі – сечі людини. Для цього з кривих $D = f(\lambda)$ беремо значення D_{λ_1} і D_{λ_2} , а з кривих рис. 7 значення екстинкцій для відповідних довжин хвиль. Проте з точки зору оцінки ефективності лікування важливі не абсолютні значення C_c та C_{ck} , а відношення C_{ck} до C_c , що фізично буде характеризувати зміну співвідношення між концентраціями сечової кислоти і сечовини в процесі лікування. Введемо позначення $C_{ck}/C_c = \gamma$. Розраховані значення γ для сечі розглянутих вище пацієнтів наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Значення γ для сечі хворих на туберкульоз легень

Час обстеження	Хворі														
	К.	В.	У.	Д.	К.	Д.	С.	К.	С.	В.	Ч.	М.	М.	С.	Т.
До лікування	1,77	1,48	1,23	1,35	1,73	1,46	1,35	1,46	2,43	1,58	1,07	2,62	1,75	3,56	1,9
Після одного місяця лікування	1,41	1,25	1,03	1,11	1,62	0,75	0,76	0,84	1,1	0,62	0,95	1,9	0,77	1,07	1,08
Після п'яти місяця лікування	1,31	0,69	1,02		0,75			1,01						1,02	

Видно, що вміст сечової кислоти порівняно з сечовиною у всіх хворих на туберкульоз легень є вищим, ніж після місячного лікування, а в деяких суттєво вищим. Після п'ятимісячного лікування цей параметр, як правило, ще більше спадає.

Висновок. Отримані в роботі результати вказують на те, що спектрофотометричний метод дослідження оптичних властивостей добових проб сечі та плазми крові людини може бути використаний у рутинній лабораторній практиці протитуберкульозних установ як один із способів визначення активності процесу та контролю за ефективністю лікування хворих на туберкульоз легень.

Література. 1. Пилишак О.В., Гуминетський С.Г., Пилишак В.П., Григорішин П.М. Исследование поглощающих и рассеивающих свойств плазмы крови и мочи // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С.137-144. 2. Guminetsky S.G., Gayka O.R., Kokoschuk G.I., Grigorishin P.M. Absorption spectra of the main organic components of human urine in the absence of proteins // Proc. SPIE. – 1999. – V. 3904. – P. 579-589.

A STUDY OF THE URINARY AND BLOOD PLASMA OPTIC PROPERTIES IN PATIENTS WITH DESTRUCTIVE LUNG TUBERCULOSIS IN THE PROCESS OF THEIR TREATMENT

V.P.Shapovalov, S.G.Guminetsky, V.P.Pishak, M.M.Kuzmin

Abstract. It has been established that in patients suffering from the pulmonary form of tuberculosis with cavitation within the spectral range $\lambda > 260$ nm, increased values of relative the optical

density are observed both in the urinary absorption spectrum and the blood plasma as well. A possibility of using the absorption spectral analysis in order to determine absolute indices of the urica and uric acid concentrations in human urine have been substantiated. It has been demonstrated that the values of the optical density within the field $\lambda=285$ nm for urine and $\lambda=280$ nm for the blood plasma may serve as a certain optical test to detect the process activity and a method of monitoring the efficacy of its treatment.

Key word: urine, optical density, blood plasma, absorption spectrum, tuberculosis.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
Yu. Fedkovych National University (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 21.01.2002 року