

На правах рукописи

БАРЕЕВА РОЗА СИБАГАТОВНА

**ИЗМЕНЕНИЕ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЧИ
ЧЕЛОВЕКА ПРИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ**

03.00.02 – Биофизика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург
2005

Работа выполнена в Военно-медицинской академии на кафедре биологической
и медицинской физики

Научный руководитель: доктор физико-математических наук,
ст. н. с. Молодкина Людмила Михайловна.

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук, профессор Дудкин Валентин Иванович;
доктор химических наук, ст. н. с. Голикова Евгения Викторовна.

Ведущая организация: НИИ Физики Санкт-Петербургского государственного
университета

Защита состоится « ____ » _____ 2005 г. в ____ часов на заседании
диссертационного совета Д 212.229.25 при ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский
государственный политехнический университет» по адресу:
194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 5, факультет медицинской физики и
биоинженерии.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГОУ ВПО
«Санкт-Петербургский государственный политехнический университет».

Автореферат разослан « ____ » _____ 2005 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат физико-математических наук, доцент

Власова О. Л.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Мочекаменная болезнь (уролитиаз) человека – распространенное заболевание. Диагноз мочекаменной болезни (МКБ) устанавливают в основном путем ультразвукового, рентгенологического, а также биохимического обследования, направленного на выявление метаболических нарушений. Вместе с тем актуальной является во многом нерешенная задача своевременной диагностики начальных изменений свойств мочи при уролитиазе и оценка степени активности камнеобразования в период заболевания. Также открытым остается вопрос о причине камнеобразования.

В настоящее время существует два альтернативных подхода к объяснению процесса образования мочевых камней, причем в обоих рассматривается специфическая взаимосвязь присутствующих в моче солей и белков. В одном подходе белки считают коллоидными стабилизаторами кристаллических образований, за счет адсорбции которых на поверхности кристаллов повышается растворимость солей. В другом белкам отводится роль матрицы (посторонних зародышей), на которой происходит кристаллизация солей.

Несмотря на ключевую роль в агрегативной устойчивости системы мочи процесса взаимодействия ее компонентов с растворителем (водой), до сих пор не проводилось сравнения мочи здоровых и больных МКБ с этих позиций. А именно, не определялось состояние (структурирование) воды в многокомпонентной системе нативной мочи, не изучалось и средство к воде отдельных компонентов, в частности, камнеобразующих кристаллоидов и коллоидов.

Вместе с тем, такой метод исследования как микроволновая диэлектromетрия, позволяет решать подобные задачи. Крайневысокочастотный (КВЧ) диапазон электромагнитного излучения представляет особый интерес для водных систем биообъектов, поскольку он соответствует области максимальной дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды. Методом КВЧ-диэлектromетрии изучают эффекты гидратации (положительной, отрицательной, гидрофобной и гидрофильной); процессы комплексообразования, конформационные переходы биополимеров, межмолекулярные взаимодействия, состояние воды в коллоидных системах. Для простых и сложных модельных систем, а также для крови, желчи, кожи больных и здоровых пациентов на основании диэлектromетрических характеристик рассчитывают действительную и мнимую части комплексной диэлектрической проницаемости, тангенс диэлектрических потерь, по которым судят о структуре воды, взаимодействующей с растворенными и коллоидными компонентами на разных уровнях организации системы. Поэтому метод КВЧ-диэлектromетрии

принципиально может быть использован для характеристики дисперсной системы мочи, включающей ионные, молекулярно растворенные и коллоидные компоненты.

Цель и задачи работы. Цель работы заключалась в сравнении взаимодействия (степени структурирования) воды с компонентами мочи здоровых людей и больных мочекаменной болезнью (МКБ) с применением КВЧ-диэлектрметрии.

Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

1. Провести химический и биохимический анализ изучаемых образцов мочи больных уролитиазом и здоровых людей.

2. Разработать методику КВЧ-исследования мочи, включающую предварительную подготовку препарата.

3. В миллиметровом диапазоне ЭМВ изучить диэлектрические характеристики мочи здоровых людей и больных МКБ, обеспечив условия потери агрегативной устойчивости систем.

4. В широком диапазоне pH при сохранении естественного белкового фона сравнить коллоиды мочи здоровых людей и больных МКБ по степени их сродства к воде.

5. Оценить возможность лабораторной диагностики литогенных свойств мочи человека на основе регистрации электродинамических параметров мочи.

Научная новизна работы:

1. Впервые КВЧ-диэлектрметрия применена для исследования литогенных свойств мочи.

2. Впервые определены комплексные значения диэлектрической проницаемости мочи здоровых людей и больных МКБ, по которым выявлены различия в степени структурирования воды в этих системах.

3. Установлена однозначная связь между степенью литогенности мочи и характером ее взаимодействия со сверхслабым ЭМИ миллиметрового диапазона.

4. Впервые получены зависимости электрокинетического потенциала коллоидов мочи от pH среды и показано их отличие для систем мочи здоровых людей и больных МКБ.

5. Проведена оценка значений константы Гамакера для коллоидов мочи здоровых людей и больных МКБ.

Практическая значимость работы. Разработанная методика изучения здоровой и литогенной мочи в миллиметровом диапазоне низкоинтенсивного ЭМИ, включая предварительную подготовку препарата, выявленные различия их диэлектрических свойств могут быть использованы для создания

технических средств ранней клинической диагностики МКБ на стадиях до образования почечных камней; предложенный критерий литогенности позволит использовать параметры комплексного коэффициента отражения (ККО) миллиметрового излучения в условиях вакуумного концентрирования мочи для градации ее камнеобразующих свойств.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Моча здоровых людей и моча больных МКБ характеризуются различными значениями компонент комплексной диэлектрической проницаемости в миллиметровом диапазоне сверхслабого электромагнитного излучения; моче здоровых пациентов соответствует более высокая степень структурирования воды.

2. Вакуумное концентрирование образцов мочи в 1,5-3 раза способствует развитию процесса агрегации диспергированных компонентов в течение эксперимента, в результате чего существенно возрастают различия диэлектрических свойств мочи здоровых людей и больных МКБ.

3. Взвешенные частицы (коллоиды) мочи здоровых людей характеризуются одинаковой зависимостью электрокинетического (ζ -) потенциала от pH среды, но высокой степенью неоднородности систем по электрокинетическим свойствам; для коллоидов мочи разных больных МКБ характерны различные зависимости « $\zeta - pH$ », но меньшая неоднородность электрокинетических свойств коллоидов каждого образца мочи.

4. Взвешенным частицам мочи здоровых людей свойственны в целом меньшие значения константы Гамакера, чем частицам мочи больных МКБ, что может свидетельствовать об их большем средстве к воде.

Апробация работы. Основные результаты настоящей работы докладывались на Юбилейной конференции молодых ученых и специалистов ВМедА (Санкт-Петербург, 1998), VII Международной конференции урологов (Харьков, 1999), II съезде биофизиков (Москва, 1999), Международном бизнес-форуме ИВТ-XXI «Информационные и бизнес-технологии XXI века» (Санкт-Петербург, 1999), Научно-практической конференции и школе-семинаре «Формирование технической политики инновационных наукоемких технологий» (СПбГПУ, 17-20 июня 2004).

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, список которых приведен в конце автореферата.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения и списка цитированной литературы. Работа изложена на 175 страницах, содержит 32 рисунка и 21 таблицу, в том числе 3 рис. и 13 табл. в Приложении, библиографии 129 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована цель и задачи работы, показано ее научно-практическое значение.

Первая глава – обзор литературы, в котором рассмотрены физико-химические основы камнеобразующих свойств мочи, результаты применения миллиметрового диапазона электромагнитного излучения для изучения биологических водных систем, а также факторы, влияющие на кристаллизацию солей и агрегацию коллоидов.

Во второй главе представлены объекты исследования, методики эксперимента, используемое оборудование.

Сравнение литогенных свойств мочи проводили в двух выборках: в 29 пробах мочи, полученной от здоровых людей и 65 пробах, взятых у людей, имеющих клинический диагноз МКБ. Дополнительно исследовали мочу 15 урологических больных без диагноза МКБ. Возраст доноров обеих групп (от 17 до 73 лет), а также их пол не учитывали.

Для исследования диэлектрических свойств мочи использовали комбинацию волноводного и квазиоптического методов в варианте контактного волновода, согласованного с исследуемой средой. Применяли устройство, позволяющее проводить измерения амплитуды и фазы комплексного коэффициента отражения (ККО) от исследуемой среды ЭМИ крайне высокой частоты (30 ГГц) и сверхмалой интенсивности (плотность потока излучения на фланце излучающего устройства не превышала $5 \text{ мкВт} \cdot \text{см}^{-2}$) (Черняков Г. М., Патент РФ №2098016, 1997). Температурные зависимости параметров ККО (в диапазоне от 25 до 38°C) определяли для нативных и концентрированных (в 1,4; 2; 2,5; 3,3 раза) образцов мочи, а также для бидистиллированной воды. (Метод анализа проб мочи с применением многоступенчатого удаления свободной воды из образцов при температуре внутренней среды человека с целью создания условий потери агрегативной устойчивости системы предложен Черняковым Г.М.). Температуру поддерживали с точностью 0,2°C. Погрешность измерения амплитуды составляла 1%, фазы – 0,5% (при доверительной вероятности $P_d = 0,95$).

Полученные данные использовали для расчета действительной (ϵ') и мнимой (ϵ'') составляющих комплексной диэлектрической проницаемости, тангенса диэлектрических потерь ($\text{tg}\delta = \epsilon''/\epsilon'$) (Стрэттон, 1948). Объемную долю воды (P) оценивали по формуле Максвелла-Вагнера:

$$|\epsilon^*| = |\epsilon_\ell^*| \frac{|\epsilon_i^*|(1+2p') + 2|\epsilon_\ell^*|(1-p')}{|\epsilon_i^*|(1-p') + 2|\epsilon_\ell^*|(1-p'/2)}, \quad \text{где } |\epsilon_i^*| \text{ – диэлектрическая проницаемость}$$

неполярного сухого остатка, $|\varepsilon'_l|$ – воды, $|\varepsilon^*|$ – раствора, p' – объемная доля сухого остатка. $|\varepsilon^*| = |\varepsilon' - i\varepsilon''| = (\varepsilon'^2 + \varepsilon''^2)^{1/2}$. Относительная погрешность найденных величин составляла 1% ($P_d = 0,95$).

По значениям амплитуды и фазы комплексного коэффициента отражения рассчитывали критерий литогенности мочи (L) по предложенной нами формуле, максимально учитывающей одновременный вклад обеих составляющих ККО:

$$L = \sum_i 0,5 \cdot b_i \cdot \sin \Delta\varphi_i \cdot (b_o - b_i \cdot \cos \Delta\varphi_i),$$

где $i = 5$ – количество вариантов по степени концентрирования мочи; b_i – амплитуда отражённого сигнала в пробе концентрированной мочи; b_o – то же в пробе дистиллированной воды; $\Delta\varphi_i$ – разность фаз ККО от исследуемой среды и бидистиллированной воды.

Для изучения электрокинетических свойств и кинетики агрегации коллоидов мочи применяли, соответственно, метод микроэлектрофореза (МЭФ) и поточной ультрамикроскопии (ПУМ). Измерения проводили на лазерных установках, созданных в СПбГПУ (Молодкина и др., 1986, 1987), позволяющих регистрировать частицы размером более 65 нм (расчет на относительный показатель преломления 1,20) в интервале концентраций $5 \cdot 10^4$ - $5 \cdot 10^8$ см⁻³. В качестве источников света использовали гелий-неоновый лазер мощностью 2 мВт, с длиной волны 0,6328 мкм. Луч света диаметром 2,5 мм (на выходе из трубки) фокусировали в поле зрения до диаметра 30 мкм. Относительная погрешность измерения соответствующих величин в обеих установках составляла 5-10%.

В каждом микроэлектрофоретическом эксперименте определяли подвижность 50-80 частиц. Результаты использовали для расчета среднего значения электрофоретической подвижности (U_{cp}), стандартного отклонения (σ_U) и коэффициента вариации ($C_V = \sigma_U / U_{cp}$), а также для построения гистограмм распределения частиц по электрофоретической подвижности. Электрокинетический (ζ) потенциал рассчитывали по средним значениям электрофоретической подвижности с учетом (либо без учета) поправки на поляризацию двойного электрического слоя (Wirsema, 1966; O'Brien, White, 1978) для двух значений радиусов частиц (25 и 50 нм).

В широком диапазоне значений константы Гамакера (от 10^{-21} до 10^{-19} Дж) по классическому варианту теории ДЛФО рассчитывали энергию парного взаимодействия частиц при тех же размерах частиц. Энергию молекулярного притяжения определяли по микроскопической теории с учетом электромагнитного запаздывания дисперсионных сил. По найденным значениям высоты и положения потенциального барьера рассчитывали фактор

устойчивости при барьерной коагуляции (Дерягин, Муллер, 1967); по значениям глубины потенциального минимума – фактор устойчивости во вторичном минимуме (Хогг, Янг, 1976).

Суммарную концентрацию белка в моче определяли по модифицированной методике Лоури-Петерсона (Peterson Garry, 1977); концентрацию ряда минеральных и органических составляющих мочи – по общепринятым биохимическим методикам.

Третья глава посвящена определению электродинамических параметров мочи здоровых людей и больных МКБ.

В первом подразделе представлены результаты выборочного химического и биохимического исследования проб мочи, которые использовали для изучения камнеобразующих свойств радиофизическим методом. В пробах определяли концентрацию калия, натрия, хлора, кальция, фосфора, а также мочевой кислоты, уратов, оксалатов и белка. Минимальные, максимальные, средние значения компонентов мочи и показатели нормы представлены в табл.1

Таблица 1

Результаты анализа 20 проб мочи больных МКБ
и 6 проб здоровых людей (в ммоль·л⁻¹)

Паци- енты	Значе- ния	Калий 35-90	Натрий 150- 220	Кальций 2,5-7,5	Хлор 115- 220	Фосф. 29-45	Мочевая кислота 1,2-7,1	Ураты до 0,7
Больн.	мин	18	60	1,9	24	4,2	2,3	0,08
	макс	100	216	6,4	348	40,2	7,1	1,88
	средн.	36,8	141	3,1	156	19,6	3,2	0,68
Здоров.	мин	28	120	2,7	75	9,7	2,3	0,51
	макс	66	192	6,7	316	39,5	5,9	1,0
	средн.	34	140	3,2	164	24,2	3,6	0,62

Из табл.1 видно, что средние значения концентраций почти всех названных компонентов в моче здоровых и в моче больных МКБ практически равны и укладываются в пределы нормы, либо немного не достигают их. Только в двух пробах мочи больных МКБ при микроскопии осадка мочи обнаружены кристаллы оксалатов и в четырех – повышенное содержание уратов. При этом значимой корреляции между наличием камня в мочевой системе и химическим составом мочи не установлено. Суммарная концентрация белков в пробах мочи здоровых людей и больных МКБ составляла от 12 до 40 мкг·мл⁻¹.

Во втором подразделе приведены результаты КВЧ-диэлектротрии модельных растворов солей, приготовленных с двукратным превышением

средних значений минеральных компонентов в проанализированных пробах мочи: $NaCl$ – 270 ммоль·л⁻¹, KCl – 53 ммоль·л⁻¹, и $CaCl_2$ – 6 ммоль·л⁻¹. Сравнительные результаты исследований амплитуды (A) и фазы (φ) комплексного коэффициента отражения ЭМИ частотой 30 ГГц от бидистиллированной воды и модельных солевых растворов при разной степени концентрирования представлены в табл.2.

Таблица 2

Амплитуда (отн. ед.) и фаза (угл. град.) ККО
от модельных растворов ЭМИ частотой 30 ГГц

T	Объект							
	Бидистиллированная вода		Исходный модельный раствор		Р-р, концентрированный в 2 раза		Р-р, концентрированный в 3 раза	
(°C)	A	φ	A	φ	A	φ	A	φ
30	0,137	201	0,137	201	0,132	201	0,131	200
35	0,153	206	0,153	206	0,151	206	0,149	205

Видно, что амплитуда и фаза отраженного сигнала от бидистиллированной воды и модельного солевого раствора совпадают; при концентрировании раствора в 2 раза меняется амплитуда сигнала, а в 3 раза – фаза. Т.о., действие ионов с положительной и отрицательной гидратацией оказывается практически скомпенсированным, и почти не проявляется диэлектрически при увеличении их концентрации до 0,5 моль·л⁻¹ и выше. Это согласуется с литературными данными (Кузнецов, 1994). Т.о., присутствие в моче растворенных солей в концентрациях, свойственных для нативной и концентрированной мочи, слабо влияет (на уровне погрешности измерения) на диэлектрические параметры исследуемых систем.

Третий подраздел главы содержит результаты КВЧ-диэлектromетрии 109 образцов мочи больных МКБ и здоровых людей.

При выборе температурного интервала для проведения массовых диэлектromетрических измерений (частота 30 ГГц) предварительно определяли зависимость амплитуды и фазы ККО от температуры в диапазоне 25 – 38 °C при вакуумном концентрировании проб в 1,4; 2; 2,5; 3,3 раза. Оба параметра (A и φ) монотонно возрастали с ростом температуры и убывали с ростом степени концентрирования мочи. Полученный характер зависимостей $A(T)$ и $\varphi(T)$ позволил ограничиться в дальнейшем двумя значениями температуры 30 и 35 °C.

Типичные зависимости амплитуды и фазы ККО литогенной и здоровой мочи представлены, соответственно, на рис. 1 (Ia,б и IIa,б). Электродинами-

ческие параметры большинства проб нативной литогенной мочи очень мало отличались от параметров бидистиллированной воды, в то же время для проб мочи здоровых людей подобные отличия оказались значительными. По мере концентрирования разница существенно возросла только для мочи здоровых людей. Так, например, максимальное отличие амплитуды и фазы отраженного сигнала для литогенной мочи составило $\Delta A = 0,013$; $\Delta\varphi = 6^\circ$ [рис.1 (Ia,б)], для мочи здоровых $\Delta A = 0,053$; $\Delta\varphi = 22^\circ$ [рис. 1 (IIa,б)].

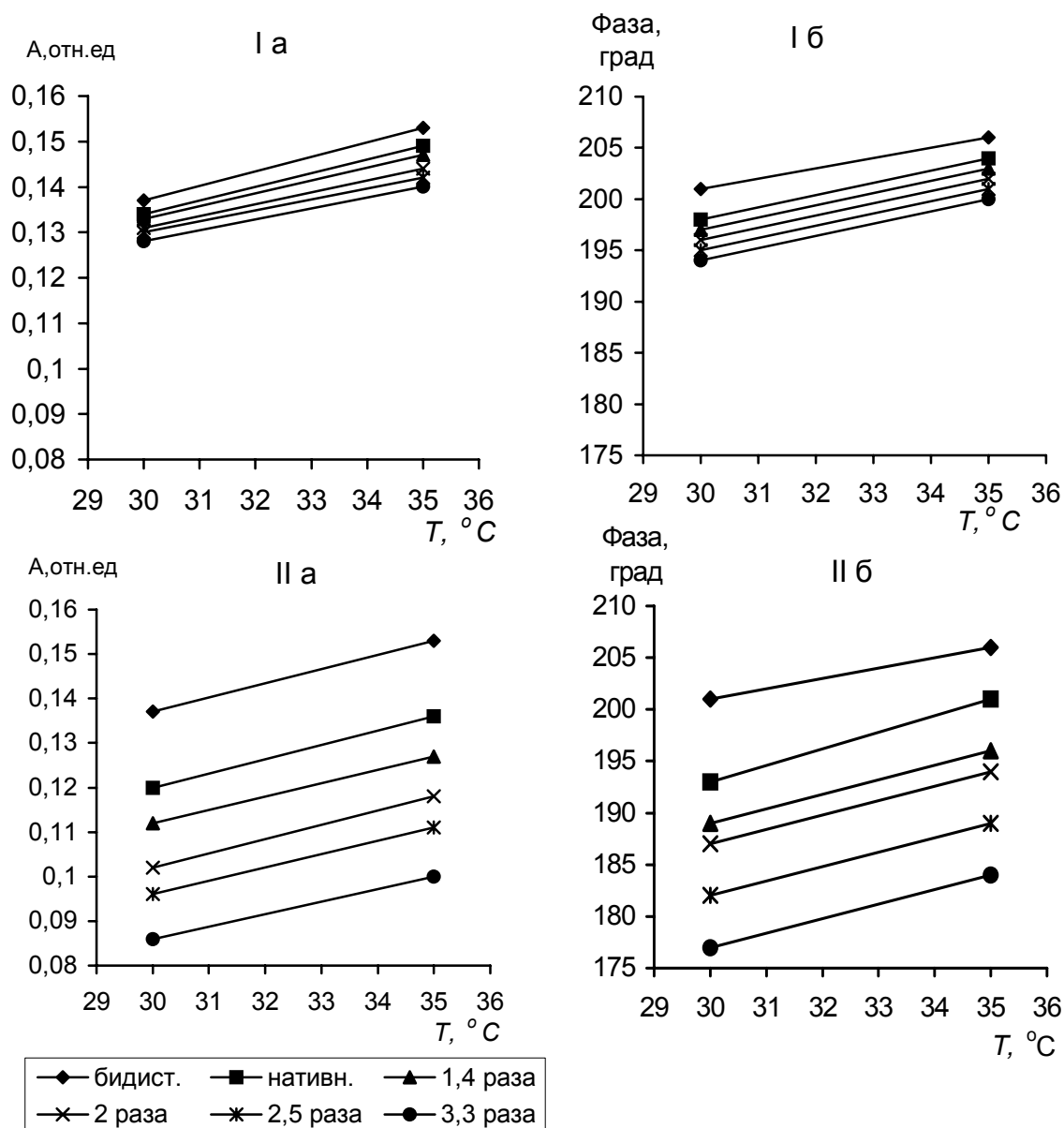


Рис. 1. Температурные зависимости амплитуды (в долях от амплитуды падающего излучения) (а) и фазы (б) отраженного сигнала от бидистиллированной воды, мочи здорового человека (I) и больного МКБ (II) при разной степени концентрирования.

Для полученных экспериментальных результатов, составивших весьма вариативный массив, был рассчитан критерий литогенности (L) при температуре 35°C . При этом выявилось четыре области уплотнений значений L

(40-70, 100-150, 170-180 и 240-270 усл. ед.), по которым было введено условно четыре степени градации литогенности мочи: «сильно литогенная», «литогенная», «слабо литогенная» и «не литогенная» (табл.3).

Таблица 3

Распределение мочи больных МКБ и здоровых людей по фактору литогенности

Обследуемая Группа	Количество доноров	Сильно литогенная $L=240-270$	Литогенная $L=170-180$	Слабо литогенная $L=100-150$	Не литогенная $L=40-70$
Больные МКБ	65 (100%)	29 (44,6%)	24 (36,9%)	7 (10,8%)	5 (7,7%)
Здоровые	29 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (24,1%)	22 (75,9%)

Из пяти больных, вошедших в «нелитогенную» группу, трое наблюдались после операции ударно-волнового дробления мочевого камня, а у двоих – камни в почках обнаружены "случайно", в ходе общего клинического обследования.

Дополнительное исследование проб мочи 15 пациентов урологической клиники, не имеющих диагноза МКБ, но страдающих воспалительными и другими заболеваниями мочевой системы показало, что более половины проб (8 из 15) обнаружили достаточно выраженные ($L=100-150$) литогенные свойства. Присутствие микроорганизмов в части проб мочи, помимо сдвига pH в область высоких значений (Единый, 1976), очевидно, меняет и баланс свободной и связанной воды. Т.о., для достоверной интерпретации результатов КВЧ-диэлектротметрии измерения необходимо проводить на пробах, не осложненных наличием воспалительных процессов у доноров.

По экспериментальным данным (при $30^{\circ}C$) амплитуды и фазы ККО для проб мочи разной степени литогенности (см. табл.3) с привлечением характеристик измерительной системы были рассчитаны значения комплексной диэлектрической проницаемости, тангенса диэлектрических потерь и доли объемной воды (табл.4).

Расчетные данные для чистой воды соответствуют справочным данным (Ахадов, 1999).

Пониженное для обеих систем значение диэлектрической проницаемости в миллиметровом диапазоне по сравнению с величинами ϵ' и ϵ'' бидистиллированной воды вполне объяснимо тем, что часть объема растворителя с высокой диэлектрической проницаемостью замещается молекулами растворенных веществ (или коллоидами) и молекулами связанной с ними воды, обладающими малой диэлектрической проницаемостью.

Диэлектрические характеристики проб мочи
разной степени литогенности при 30°С

Система	Бидист вода	Моча							
		Нелитогенная		слабо литоген.		литогенная		Сильно литогенная	
		исх.	конц. в 3,3 р	исх.	конц. в 3,3 р	исх.	конц. в 3,3 р	исх.	конц. в 3,3 р
ε'	30,4	26,5	21,1	27,0	22,6	27,8	24,8	28,8	27,6
ε''	35,5	33,7	32,6	34,1	33,2	34,4	33,9	34,4	33,6
$tg\delta$	1,17	1,27	1,54	1,27	1,47	1,24	1,37	1,19	1,22
$ \varepsilon^* $	46,7	42,9	38,8	43,5	40,2	44,3	42,0	44,9	43,5
$P, \%$	100	90,89	81,83	92,35	84,43	94,17	88,72	95,62	92,22

Поскольку содержание минеральных и органических примесей в моче здоровых людей и больных МКБ в целом можно считать одинаковым, то полученную разницу между величинами ε' и ε'' литогенной и нелитогенной мочи можно объяснить разным соотношением связанной и свободной воды.

Из табл.4 видно, что тангенс диэлектрических потерь и количество объемной воды являются наиболее чувствительными характеристиками степени литогенности проб мочи. Поскольку тангенс диэлектрических потерь уменьшается с уменьшением льдоподобной воды в системе, то его большее значение в нелитогенной моче по сравнению с литогенной свидетельствует о большей доле структурированной воды в нелитогенной моче. Равно как и меньшая доля объемной воды в нелитогенной моче (по сравнению с литогенной), означает большее количество молекул воды, имеющих ограниченное число вращательных степеней свободы вследствие их взаимодействия с молекулами растворенных или с поверхностью диспергированных веществ.

Четвертая глава посвящена сравнительному изучению сродства к воде коллоидов мочи здоровых людей и больных МКБ путем сопоставления их электрокинетических свойств и кинетики агрегации.

Систему мочи подвергали преобразованию для удаления избыточных растворенных солей (источников образования новых кристаллоидов), при этом сохраняли уже сформировавшиеся коллоиды всего диапазона размеров и естественный белковый фон. Преобразование системы проводили с помощью щадящих методов – эксклюзионной хроматографии с использованием акрилекса Р6 (пределы фракционирования 10^3 – $6 \cdot 10^3$) и диализа с исключаемой

молекулярной массой $6 \cdot 10^3$. Приготовление рабочих дисперсий проводили путем введения преобразованных систем в обеспыленные растворы $10^{-3}M NaCl$ заданной кислотности в соотношении 1:20 или 1:10.

Предварительное изучение электрокинетических свойств и кинетики агрегации коллоидов мочи показало необходимость выполнения следующих условий при постановке экспериментов: а) измерение численной концентрации взвешенных частиц необходимо дополнять экспресс-анализом распределения частиц по размерам; б) электрофоретическую подвижность частиц следует измерять неоднократно, выбирая время анализа по кинетической кривой коагуляции.

Электрокинетические характеристики коллоидов мочи определяли для шести образцов мочи здоровых людей и больных МКБ, подготовленных путем диализа и хроматографии (рис.2).

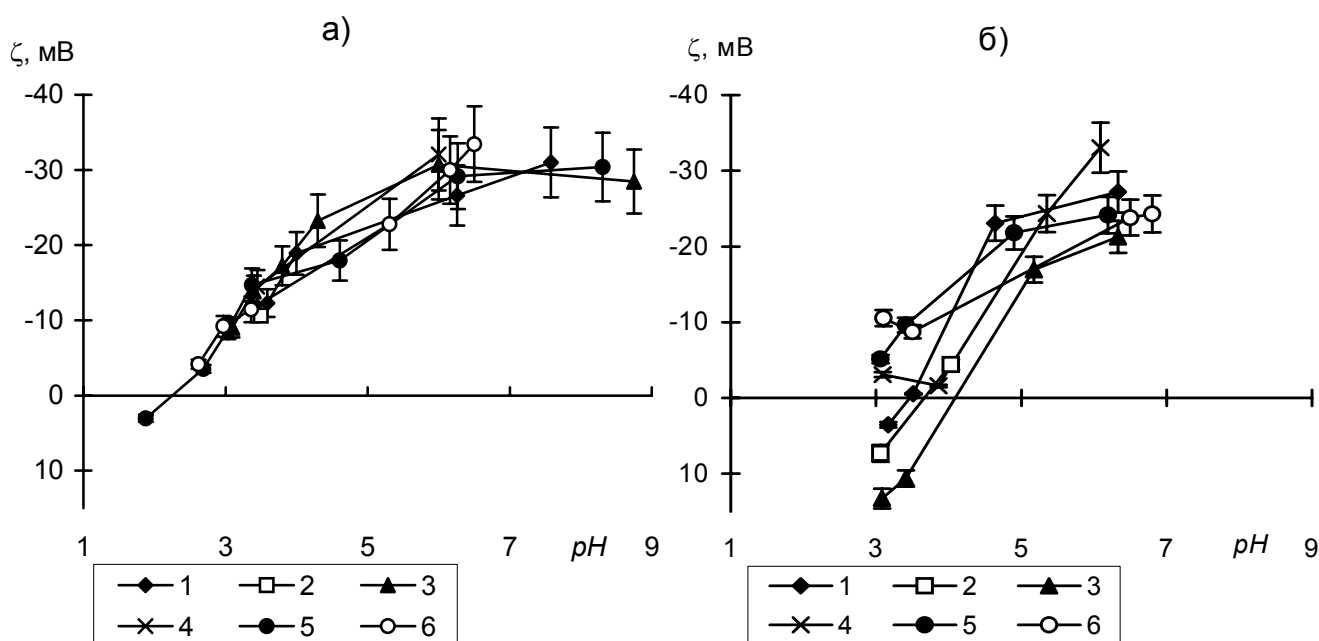


Рис. 2. Зависимости ζ_{cp} - pH для систем, приготовленных из мочи здоровых людей (а) и больных МКБ (б): а) кривые 1, 2 – образец №1; кр. 3 - №2; кр. 4 - №2а; кр. 5, 6 - №3; время с момента приготовления системы (Δt): 1, 3, 4, 5 – (40-85) мин, 2 – 5 ч, 6 – (50-52) ч; б) кривая 1 – обр. №4; кр. 2 - №4а; кр. 3, 4 - №5; кр. 5, 6 - №6; Δt : 1, 2, 3, 5 (40-85)мин; 4, 6 – 23 сут. Номера без индексов – диализ; с индексом «а» – эксклюзионная хроматография. Поправка на поляризацию ДЭС не проводилась

Как видно из рис.2а, для разных образцов мочи здоровых людей средние значения электрокинетического потенциала (ζ_{cp}) ложатся на одну кривую, причем модуль ζ_{cp} снижается с уменьшением pH в диапазоне pH 2-6 (ионы H^+ и OH^- – потенциалопределяющие). Изоэлектрическое состояние достигается при $pH < 3$. Следует отметить, что экспериментальные точки, полученные в первый

час после приготовления рабочих систем, отражают свойства разных коллоидов, существенная доля которых формировалась в момент приготовления дисперсных систем из «невидимых» ультрадисперсных частиц. Так при pH 4,3-8,3 регистрировались сформированные ранее частицы с диаметром порядка 100 нм. При pH 3,05 и 3,35 в первый час после приготовления систем появлялись сверхмелкие частицы (вследствие агрегации ультрадисперсных), при этом численная концентрация ν возрастала в несколько раз (см. рис.3). В области, близкой к изоэлектрическому состоянию (pH 2,7 и 1,9) агрегация происходила настолько интенсивно, что при первом измерении регистрировались уже крупные агрегаты. Тем не менее, электрокинетические свойства частиц, сформировавшихся при разной кислотности среды, подчиняются единой закономерности. Более того, на ту же кривую $\zeta_{cp}-pH$ ложатся экспериментальные точки, полученные через 50 часов, отражающие «обновленные» системы.

Для систем, приготовленных из мочи больных МКБ (рис.2б), характерно различное положение изоэлектрических точек, а также отличие наклона кривых $\zeta_{cp}-pH$ по отношению к оси абсцисс. Длительное хранение системы могло сопровождаться изменением не только значения, но и знака ζ_{cp} (кривые 3 и 4).

Расчитанные зависимости стандартного отклонения электрофоретической подвижности (σ_U) от среднего значения (U_{cp}) и коэффициента вариации (C_V) от U_{cp} показали существенно бóльшую неоднородность по электрокинетическим свойствам систем мочи здоровых людей, чем систем мочи больных МКБ. Если для первых отмечено сходство с такими биосистемами как вирус гриппа (Молодкина, 1989), то для вторых – с коллоидами полистирольного латекса (Ревут, Усъяров 1981). Это позволяет предположить, что по природе поверхности коллоиды здоровых доноров ближе к биообъектам (например, содержат больше белковых компонентов).

Результаты изучения коагуляции коллоидов мочи как здоровых доноров (см. пример на рис.3), так и больных МКБ в широком диапазоне pH , свидетельствуют о том, что а) кинетика коагуляции в основном определяется электрокинетическими свойствами коллоидов (величиной ζ -потенциала, степенью однородности систем); б) из сверхмелких (изначально «невидимых») коллоидов формируются «видимые», которые мало отличаются по электрокинетическим свойствам от исходных в случае систем здоровых людей, но существенно – для систем мочи больных МКБ.

В целом для коллоидов мочи здоровых людей в широком диапазоне pH (от 1,9 до 8,75) средние значения ζ -потенциала (в диапазоне ζ_{cp} от +3 до -33 мВ) и характер (кинетика) агрегации коллоидов практически однозначно соответствовали величине pH . Для коллоидов больных МКБ отсутствовало

четкое соответствие между поведением систем при агрегации и значениями электрокинетического потенциала (тем более значениями pH среды); в то же время наблюдалось увеличение размаха колебаний регистрируемой обратной численной концентрации коллоидов мочи при приближении к изоэлектрической точке.

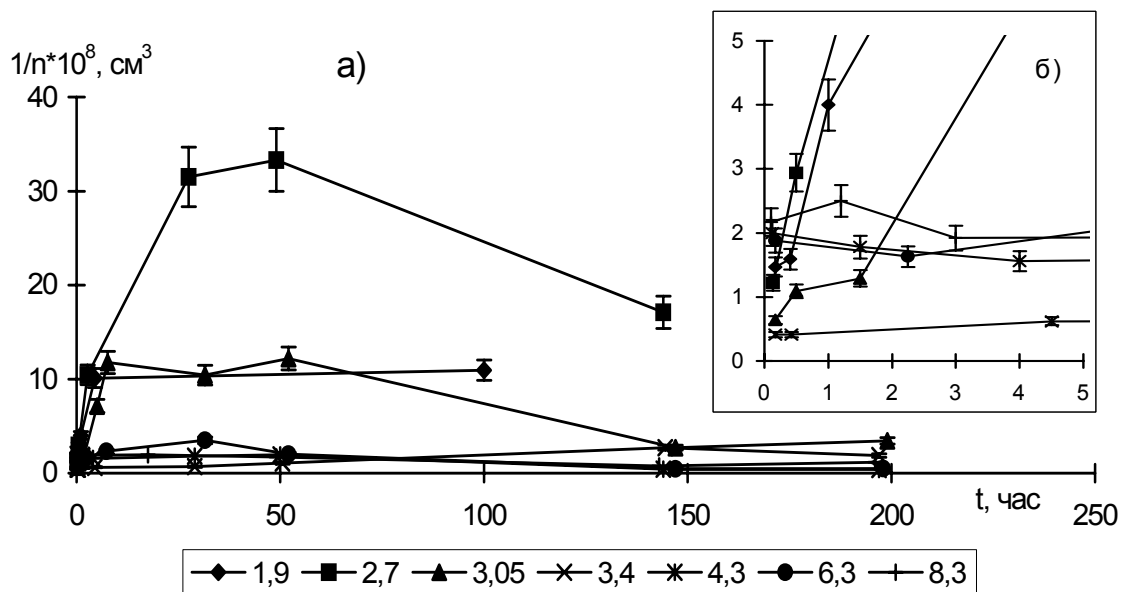


Рис. 3. Кинетические кривые коагуляции коллоидов мочи здорового донора (образец №3) в 10^{-3} М растворах $NaCl$ при разных значениях pH : а) – весь период наблюдения, б) – начальный участок.
 pH среды: 1 – 1,9; 2 – 2,7; 3 – 3,05; 4 – 3,4; 5 – 4,3; 6 – 6,3; 7 – 8,3

По классическому варианту теории ДЛФО был проведен расчет энергии парного взаимодействия коллоидов «видимого» и «невидимого» диапазонов ($a=50$ и 25 нм) для широкого диапазона значений констант Гамакера A при использовании значений штерновского потенциала, равных значениям электрокинетического потенциала, рассчитанных с поправкой на поляризацию ДЭС для данных размеров частиц.

Произведено сравнение наиболее вероятных значений константы Гамакера, при которых электрокинетические данные не противоречат характеру (кинетике) агрегации коллоидов мочи. Поскольку для ряда проб и значений pH электрокинетические данные могли объяснить кривые коагуляции для любого значения константы Гамакера, то за «опорные» значения A принимали единственно возможные для некоторых значений pH , а при других pH выбирали ближайшие к ним (по возможности те же) значения константы Гамакера. При таком подходе взаимодействие коллоидов мочи здоровых людей можно характеризовать величиной константы Гамакера порядка 10^{-20} – $5 \cdot 10^{-20}$ Дж, а взаимодействие коллоидов мочи больных МКБ – величиной $A \approx 10^{-19}$ Дж.

Полученное различие можно трактовать с учетом действия частиц через прослойку растворителя. Поскольку, согласно микроскопической теории, сложные константы A_{121} тем выше, чем больше различаются вещества дисперсной фазы A_{11} и дисперсионной среды A_{22} $\left[A_{121} = \left(\sqrt{A_{11}} - \sqrt{A_{22}} \right)^2 \right]$ (Яминский и др., 1982), то можно считать, что поверхность коллоидов мочи больных МКБ является менее гидрофильной, чем поверхность коллоидов мочи здоровых доноров.

Предположения о присутствии сверхмелких (изначально невидимых с помощью поточного ультрамикроскопа) частицах подтвердилось при анализе мочи методом спектроскопии оптического смешения (ОС). В данной части работы исследованы 3 образца мочи здоровых людей и 11 образцов мочи больных МКБ. Для всех образцов мочи, не зависимо от патологии, были получены бимодальные спектры, причем размер меньшей моды соответствовал диаметру ~ 50 нм.

Основные результаты и выводы работы:

1. Методом КВЧ-диэлектрметрии показано, что моча здоровых людей и больных МКБ характеризуются различными значениями комплексной диэлектрической проницаемости, которые демонстрируют бóльшую степень структурирования воды в системе здоровой мочи.

2. Вакуумное концентрирование образцов усугубляет агрегативную неустойчивость систем, что усиливает различия в соотношении между объемом свободной и связанной воды в моче здоровых людей и больных МКБ, приводящее к возрастанию различия их диэлектрических свойств.

3. Предложен критерий литогенности, позволяющий с достаточной вероятностью определять степень литогенности мочи у данного пациента.

4. Коллоиды (кристаллоиды) мочи здоровых людей характеризуются одинаковой зависимостью электрокинетического (ζ -) потенциала от pH среды, но высокой степенью неоднородности систем по электрокинетическим свойствам; для коллоидов мочи разных больных МКБ характерны различные зависимости « $\zeta - pH$ », но меньшая неоднородность электрокинетических свойств коллоидов каждого образца мочи.

5. Взвешенным частицам мочи здоровых людей свойственны в целом меньшие значения константы Гамакера ($10^{-20} - 5 \cdot 10^{-20}$ Дж), чем частицам мочи больных МКБ ($\sim 10^{-19}$ Дж), что может отвечать их большему средству к воде.

Основные результаты и выводы опубликованы в работах:

1. Бареева Р.С. Изучение коагуляции взвешенных частиц мочи здоровых и больных мочекаменной болезнью // Юбилейная конференция молодых ученых и специалистов: Тез. докл. – ВМА, 1998. – С. 15
2. Бареева Р.С., Саматыго А.Б. Инструментальный метод ранней диагностики мочекаменной болезни // Юбилейная конференция молодых ученых: Тез. докл. – ВМА, 1998. – С. 16
3. Бареева Р.С., Шкуро А. В. Сопоставление параметров КВЧ-определения литогенности мочи с некоторыми биохимическими показателями проб мочи больных уролитиазом // Юбилейная конференция молодых ученых: Тез. докл. – ВМА, 1998. – С. 16
4. Бареева Р.С., Саматыго А.Б., Черняков Г.М. Исследование камнеобразующих свойств мочи с помощью КВЧ-излучения сверхмалой интенсивности // Мочекаменная болезнь: Тез. докл. VII-я Международная конференция урологов. – Харьков, 1999. – С. 77-78
5. Бареева Р.С., Черняков Г.М. Использование КВЧ-излучения сверхмалой интенсивности для исследования литогенных свойств мочи // Тез. докл. II Съезда биофизиков России: – Москва, 1999. – Т.2, IX.10. – С. 646-647
6. Молодкина Л.М., Бареева Р.С., Черняков Г.М. Изучение плохо определенных высокодисперсных систем на примере мочи здоровых людей и больных мочекаменной болезнью // Информационные и бизнес-технологии XXI века: Труды Межд. Бизнес-форума (22-27 ноября 1999 г.). – СПб: СПбГТУ, 1999. – С.51-52
7. Бареева Р.С., Молодкина Л.М. Электрокинетические свойства и агрегативная устойчивость дисперсий коллоидов мочи здоровых людей и больных мочекаменной болезнью // Формирование технической политики инновационных наукоемких технологий: Сб. трудов науч.-практ. конф. и школы-семинара. – СПб: СПбГПУ, 2004. – С. 29-34
8. Левковский С. Н., Бареева Р.С. Физические свойства мочи в патогенезе уролитиаза// Клин. патофизиология. – 2004. – №2. – С. 24-27
9. Бареева Р.С., Яфясов А.М., Черняков Г.М. Использование миллиметрового излучения сверхслабой интенсивности для исследования камнеобразующих свойств мочи человека // Вестник СПбГУ. – 2004. – Сер. 4, вып. 3. – С. 92-95.