DOI 10.31718/2077-1096.20.4.136

УДК 616.62-003.7-073.584-073.75:577.118

Колупасєв С.М., Березняк О.П.

МОЖЛИВОСТІ ІНФРАЧЕРВОНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ ТА РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛІЗУ В ОЦІНЦІ МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ СЕЧОВИХ КАМЕНІВ

Харківський національний медичний університет,
Національний науковий центр «Харківський фізико-технічний інститут»

В роботі представлені результати комбінованого застосування інфрачервоної спектроскопії та рентгеноструктурного аналізу в оцінці мінерального складу сечових каменів, отриманих в результаті проведення екстракорпоральної ударно-хвильової літотрипсії, у 34 пацієнтів з сечокам'яною хворобою. Реєстрація інфрачервоних спектрів проводилася на інфрачервоному спектрофотометрі ІКС-29 (ЛОМО) в спектральному діапазоні 4000-400 см⁻¹. Рентгеноструктурний аналіз проводився методом рентгенівської дифракції на рентгенівському дифрактометрі ДРОН-4-07. У 22 (64,70%) зразках сечових каменів результати оцінки мінерального складу, за даними інфрачервоної спектроскопії повністю відповідали даним рентгеноструктурного аналізу. В більшості каменів ідентифікувалися вевелліт, гідроксилапатит і сечова кислота. У 4 (11,76%) випадках інфрачервона спектроскопія не дозволила точно ідентифікувати фосфатний компонент у складі каменю. Серед мінеральних складових, які мали однакові характеристики в інфрачервоному спектрі, та відповідали фосфату кальцію, при проведенні рентгеноструктурного аналізу в 3 (8,82%) випадках було виявлено гідроксилапатит, в 1 (2,94%) зразку – струвит. 8 (23,52%) зразків сечових каменів мали аморфно-кристалічну структуру, яка в інфрачервоному спектрі характеризувалася смугами поглинання, які відповідали вевелліту. При проведенні рентгеноструктурного аналізу даних зразків, на дифрактограмі визначалися недиференційовані ділянки у вигляді гало, що свідчить про наявність рентген-аморфної фази. Отримані дані свідчать про можливість використання інфрачервоної спектроскопії як методу першого вибору в оцінці мінерального складу сечових каменів. Рентгеноструктурний аналіз є доцільним в якості уточнюючої методики з метою ідентифікації фосфатного компонента каменя, що має кристалічну структуру, а також в разі виявлення рідкісних, нетипових мінералів.

Ключові слова: мінеральний склад сечового каменя, інфрачервона спектроскопія, рентгеноструктурний аналіз.

Дана робота є ініціативним дослідженням.

Вступ

Сечокам'яна хвороба є поліетіологічним захворюванням, поширеність якого неухильно зростає в багатьох країнах світу [1, 2]. Незважаючи на те, що за останні роки було досягнуто значного прогресу у визначенні конкретних факторів, що сприяють утворенню каменів у нирках та сечовивідних шляхах, багато питань щодо патогенезу сечокам'яної хвороби залишаються відкритими [3, 4].

Аналіз сечових каменів є важливою складовою комплексного обстеження хворих на уролітіаз та має важливе значення в аспекті вибору подальшої стратегії лікування та метафілактики даного захворювання [5]. Згідно з рекомендаціями Європейської асоціації урологів, серед широкого спектру методик, які були запропоновані для оцінки мінерального складу сечових каменів, перевага надається інфрачервоної спектроскопії (ІЧС) та рентгеноструктурному аналізу (РСА) [6]. Кожен з методів має свої особливості застосування. ІЧС багатьма авторами розглядається в якості золотого стандарту оцінки складу сечових каменів, але потребує більш складної підготовки зразків, пов'язаної з їх змішуванням з додатковими субстанціями та пресуванням [7, 8]. В деяких складних мінеральних композиціях даний метод не дозволяє однозначно ідентифікувати види неорганічних сполук. Метод РСА характеризується кращими ідентифікаційними

можливостями, але є більш коштовним та непридатним для визначення мінералів, які заходять в аморфному стані [9, 10]. Враховуючи фізичні особливості кожного з методів є доцільним подальше вивчення можливостей їх застосування в аспекті визначення складових компонентів сечових каменів.

Мета дослідження

Вивчення мінерального складу сечових каменів шляхом комбінованого застосування інфрачервоної спектроскопії і рентгеноструктурного аналізу.

Матеріали і методи дослідження

Мінеральний склад фрагментів сечових каменів, отриманих в результаті проведення екстракорпоральної ударно-хвильової літотрипсії, був вивчений у 34 пацієнтів (чоловіків - 21, жінок - 13), які перебували на лікуванні в КНПХОР «Обласний медичний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала» (м. Харків). Камені нирок мали місце у 20 (58,82%) хворих, сечоводу - у 14 (41,18%) пацієнтів. Середній вік обстежуваних склав 46,72±11,43 років.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 pp.), ICH GCP (1996 p.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 p.), наказів

МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Всі учасники були інформовані щодо цілей, організації, методів дослідження та підписали інформовану згоду щодо участі у ньому, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Аналіз сечового каменю проводився з використанням інфрачервоної спектроскопії і рентгеноструктурного аналізу. Реєстрація інфрачервоного (ІЧ) спектру проводилася на ІЧ-спектрофотометрі ІКС-29 (ЛОМО) в спектральному діапазоні $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$. Для проведення ІЧС було достатньо невеликої кількості фрагментів каменю з мінімальною масою 2 мг. Зразки розтиралися в агатових ступках до розміру часток $\sim 1-10 \text{ мкм}$ і змішувалися з бромідом калію. Для запису ІЧ-спектрів отримані препарати пресувалися у вигляді прозорих таблеток і аналізувалися за наявності характерних смуг поглинання, які відповідають еталонним спектрам відомих мінеральних сполук [8, 11].

Рентгеноструктурний аналіз проводився методом рентгенівської дифракції на дифрактометрі ДРОН-4-07 в мідному $\text{Cu-K}\alpha$ випромінюванні із застосуванням Ni селективно поглинаючого фільтра. Дифраговане випромінювання реєструвалося сцинтиляційним детектором. Якісний фазовий аналіз зразків проводився за допомогою міжнародної бази даних кристалографічних сполук ICDD PDF-2 [12]. Необхідною умовою проведення PCA була достатня кількість зразка - не менше 1г.

Статистична обробка даних, отриманих в процесі дослідження, проводилася з використанням електронних таблиць Microsoft Excel 2016 і програми Statistica 10 (StatSoft, США). При виборі статистичних процедур враховували методологічні вимоги Міжнародного конгресу з гармонізації клінічних досліджень ICH / GGP.

Результати дослідження та їх обговорення

Першим етапом аналізу зразків сечових каменів було проведення ІЧС. Даний метод був вперше застосований у 1955 році та зарекомендував себе як популярний і надійний метод аналізу каменів *in vitro*, який дозволяє оцінити якісний та напівкількісний склад мінералів. Залежно від умов хімічного зв'язку, а також від конкретної структури, кожна молекула неорганічної сполуки має характерний спектр поглинання в інфрачервоній області [8, 13]. Число коливань у молекулі залежить від кількості та природи присутніх атомів та її кутової структури. ІЧС є ідеальним ви-

бором для характеристики кристалічних та некристалічних зразків [11].

В основі рентгеноструктурного аналізу кристалічних речовин лежить явище рентгенівської дифракції. Період повторюваності в просторовому розташуванні атомів і атомних площин робить кристалічну речовину дифракційною решіткою для рентгенівських променів. Кожний мінерал володіє тільки йому притаманною кристалічною структурою та характерним розташуванням в просторі атомів та іонів. Саме кристалічна структура визначає індивідуальність кожного мінерального виду або сполуки і всю сукупність його фізичних і хімічних властивостей [14].

У даному дослідженні в 22 (64,70%) зразках сечових каменів результати оцінки мінерального складу, за даними ІЧС повністю відповідали даним рентгеноструктурного аналізу. Мінеральними компонентами, що найбільш часто зустрічалися у складі сечових каменів були вевеліт, гідроксіапатит і сечова кислота. В одиничних зразках були виявлені кальцію карбонат та арагоніт. Більшість каменів - 19 (55,88%) мала змішаний склад, що складався з двох і більше мінеральних компонентів.

У 4 (11,76%) випадках інфрачервона спектроскопія не дозволила точно ідентифікувати фосфатний компонент у складі каменю. Серед мінеральних складових, які мали однакові характеристики в інфрачервоному спектрі, та відповідали фосфату кальцію, при проведенні рентгеноструктурного аналізу в 3 (8,82%) випадках було виявлено гідроксиапатит, в 1 (2,94%) зразку - струвит (рис. 1).

Необхідною умовою ідентифікації мінеральних компонентів ниркового каменю за допомогою рентгеноструктурного аналізу є наявність кристалічної структури досліджуваного зразка. Недоліком даного методу є неможливість визначення речовин в аморфній фазі [9]. У нашому дослідженні 8 (23,52%) зразків сечових каменів мали аморфно-кристалічну структуру, яка в інфрачервоному спектрі характеризувалася смугами поглинання, що відповідали вевеліту. Спектри зразків, які мали в своїй структурі аморфну фазу, характеризувалися широкими розмитими максимумами і низьким рівнем пропускання в ІЧ-діапазоні ($T = 30-50\%$) (рис. 2).

При проведенні рентгеноструктурного аналізу даних зразків на дифрактограмі визначалися недиференційовані ділянки у вигляді гало, що свідчать про наявність рентген-аморфної фази (рис. 3).

Рис. 1. Рентгенівська дифрактограма сечового каменя.

Рис. 2. Інфрачервоні спектри аморфно-кристалічного (1) та аморфного (2) вевеліту в діапазоні 600-1000 cm^{-1} .

Висновки

Інфрачервона спектроскопія є методом першого вибору в оцінці мінерального складу сечових каменів. Виконання рентгеноструктурного аналізу доцільно в якості уточнюючої методики для ідентифікації фосфатного компонента каменів, що має кристалічну структуру, а також в разі

виявлення в складі каменю рідкісних, нетипових мінералів.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з визначенням оптимальних методів оцінки мінерального складу та структурних особливостей сечових каменів в аспекті діагностики метаболічних порушень у пацієнтів з сечокам'яною хворобою.

Рис. 3. Рентгеновська дифрактограма сечового каменя.

Література

1. Sorokin I, Mamoulakis C, Miyazawa K, Rodgers A, Talati J, Lotan Y. Epidemiology of stone disease across the world. *World J Urol.* 2017; 35(9): 1301-20. doi:10.1007/s00345-017-2008-6
2. Edvardsson VO, Indridason OS, Haraldsson G, Kjartansson O, Pálsson R. Temporal trends in the incidence of kidney stone disease. *Kidney Int.* 2013; 83: 146-52. doi: 10.1038/ki.2012.320
3. Shadman A, Bastani B. Kidney Calculi: Pathophysiology and as a Systemic Disorder. *Iran J Kidney Dis.* 2017 May; 11(3): 180-191. PMID: 28575878.
4. Shriganesh RB, Uthaya J, Annadurai G. Review on Urolithiasis pathophysiology and aesculapian discussion. *IOSR Jor, of Pharmacy.* 2018; 8(2): 30-42.
5. Cloutier J, Villa L, Traxer O, Daudon M. Kidney stone analysis: "Give me your stone, I will tell you who you are!" *World J Urol.* 2015; 33(2): 157-169. doi: 10.1007/s00345-014-1444-9
6. Turk C, Neisius A, Petfik A, Seitz C, Skolarikos A, Thomas K, et al. EAU Guidelines on Urolithiasis 2020. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2020. ISBN 978-94-92671-07-3. Publisher: The European Association of Urology Guidelines Office. Place published: Arnhem, The Netherlands. Available from: <https://uroweb.org/guideline/urolithiasis>.
7. Kravdal G, Helg D, Moe MK. Infrared spectroscopy is the gold standard for kidney stone analysis. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2015; 135: 313-4; doi: 10.4045/tidsskr.15.0056
8. Khan AH, Imran S, Talati J, Jafri L. Fourier transform infrared spectroscopy for analysis of kidney stones. *Investig Clin Urol.* 2018; 59(1): 32-37. doi: 10.4111/icu.2018.59.1.32
9. Singh VK, Rai PK. Kidney stone analysis techniques and the role of major and trace elements on their pathogenesis: a review. *Biophys Rev.* 2014; 6: 291-310. doi: 10.1007/s12551-014-0144-4
10. Yapanoglu T, Demirel A, Adanur S, Yüksel H, Polat Ö. X-ray diffraction analysis of urinary tract stones. *Turk J Med Sci.* 2010; 40: 415-20; doi: 10.3906/sag-0909-270
11. Selvaraju R, Thirupathi G, Raja A. FT-IR spectral studies on certain human urinary stones in the patients of rural area. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2012; 93: 260-265.
12. ICDD, Powder Diffraction File, International Centre for Diffraction Data, edited by WF McClune. Newton Square PA; 2005. p. 19073-3272.
13. Primiano A, Persichilli S, Gambaro G, Ferraro PM, D'Addessi A, Cocci A, et al. FT-IR analysis of urinary stones: a helpful tool for clinician comparison with the chemical spot test. *Dis Markers.* 2014; 2014: 176165. doi: 10.1155/2014/176165. PMID: 24868112; PMCID: PMC4020450
14. Kasidas G, Samuël C, Weir T. Renal stone analysis: why and how? *Ann Clin Biochem.* 2004; 41: 91-97.

Реферат

ВОЗМОЖНОСТИ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА МОЧЕВЫХ КАМНЕЙ

Колупаев С.М., Березняк Е.П.

Ключевые слова: минеральный состав мочевого камня, инфракрасная спектроскопия, рентгеноструктурный анализ.

В работе представлены результаты комбинированного применения инфракрасной спектроскопии и рентгеноструктурного анализа в оценке минерального состава мочевого камня, полученных в результате проведения экстракорпоральной ударно-волновой литотрипсии у 34 пациентов с мочекаменной болезнью. Регистрация инфракрасных спектров проводилась на инфракрасном спектрофотометре ИКС-29 (ЛОМО) в спектральном диапазоне 4000 - 400 см⁻¹. Рентгеноструктурный анализ проводился методом рентгеновской дифракции на рентгеновском дифрактометре ДРОН-4-07. В 22 (64,70%) образцах мочевого камня результаты оценки минерального состава, по данным инфракрасной спектроскопии полностью соответствовали данным рентгеноструктурного анализа. В большинстве камней идентифицировались вевеллит, гидроксіапатит и мочева кислота. В 4 (11,76%) случаях данный метод не позволил точно идентифицировать фосфатный компонент в составе камня. Среди минеральных составляющих, которые имели одинаковые характеристики в инфракрасном спектре, и соответствовали фосфату кальция, при проведении рентгеноструктурного анализа в 3 (8,82%) случаях

был идентифицирован гидроксипатит, в 1 (2,94%) образце - струвит. 8 (23,52%) образцов мочевых камней имели аморфно-кристаллическую структуру, которая в инфракрасном спектре характеризовалась полосами поглощения, соответствующими вевеллиту. При проведении рентгеноструктурного анализа данных образцов, на дифрактограмме определялись недифференцированные участки в виде гало, что свидетельствовало о наличии аморфной фазы. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования инфракрасной спектроскопии как метода первого выбора в оценке минерального состава мочевых камней. Рентгеноструктурный анализ целесообразен в качестве уточняющей методики с целью идентификации фосфатного компонента камней кристаллической структуры, а также в случае выявления редких, нетипичных минералов.

Summary

POTENTIALS OF INFRARED SPECTROSCOPY AND X-RAY STRUCTURAL ANALYSIS IN ASSESSING MINERAL COMPOSITION OF URINARY CONCREMENTS

Kolupayev S.M., Bereznyak E.P.

Key words: mineral composition of urinary concretions, infrared spectroscopy, X-ray structural analysis.

This paper presents the results of the combined use of infrared spectroscopy and X-ray structural analysis in assessing the mineral composition of urinary concrement obtained during extracorporeal shock wave lithotripsy in 34 patients with urolithiasis. Registration of infrared spectra was carried out by an IKS-29 (LOMO) infrared spectrophotometer in the spectral range 4000 - 400 cm^{-1} . X-ray structural analysis was carried out by X-ray diffraction using an X-ray diffractometer DRON-4-07. The mineral composition of 22 (64,70%) urinary stone samples according to infrared spectroscopy data, fully corresponded to the data of X-ray structural analysis. Vevelite, hydroxylapatite and uric acid were identified in most stones. In 4 (11,76%) cases, this method did not allow us to identify the phosphate component in the composition of the concretions accurately. Among the mineral components, which had the same characteristics in the infrared spectrum and corresponded to calcium phosphate, during the X-ray structural analysis, hydroxyapatite was identified in 3 (8,82%) cases, and struvite in 1 (2,94%) sample. 8 (23,52%) samples of urinary concretions had an amorphous-crystalline structure, which in the infrared spectrum was characterized by absorption bands corresponding to vevelite. When X-ray diffraction analysis of these samples was carried out, undifferentiated areas in the form of a halo were determined on the diffractogram that pointed out the presence of an amorphous phase. The data obtained demonstrate the potential of using infrared spectroscopy as the first choice method in assessing the mineral composition of urinary stones. X-ray structural analysis can be recommended as a clarifying technique in order to identify the phosphate component of stones of a crystal structure, as well as in the case of detecting rare, atypical minerals.