

пенью дифференцировки и наличием мутаций в гене K-ras – $R_s = 0,1895$, степенью дифференцировки и уровне экспрессии белка Ki-67 – $R_s = 0,076$.

По полученным данным при определении взаимосвязей между изучаемыми молекулярно-биологическими параметрами (мутации в гене K-ras, полиморфизмы гена DPC4, уровни экспрессии ядерного белка Ki-67) выявлено, что нет взаимосвязей среди исследуемых пар. Результаты анализа взаимосвязи молекулярно-биологических показателей (мутации в гене K-ras, полиморфизмы гена DPC4, уровни экспрессии ядерного белка Ki-67) и клинических данных пациентов, страдающих раком поджелудочной железы (морфотип, стадия опухолевой прогрессии, степень дифференцировки), показал, что изучаемые показатели являются независимыми прогностическими факторами. Выявленная слабая корреляционная взаимосвязь между исследуемыми параметрами характеризует общность биологических процессов, участвующих в онкотрансформации, отражающих агрессивное течение заболевания и неблагоприятный прогноз.

Таким образом, в результате проведенных молекулярно-биологических исследований было установлено, что наиболее часто встречаемый морфотип – протоковая аденокарцинома на IV стадии опухолевого процесса. Мутации в гене K-ras выявлены у 61,12 % пациентов, полиморфные варианты гена DPC4 у 19,67 % случаев, экспрессия Ki-67 у 64,19 % пациентов. Общая выживаемость пациентов с мутациями в гене K-ras составила 7 месяцев, а без мутаций – 6 месяцев. У пациентов с делециями гена DPC4 медиана составила 12 месяцев, без делеций – 5 месяцев. При отсутствии экспрессии белка Ki-67 5-летняя выживаемость 5 месяцев, у пациентов с гипоэкспрессией – 9 месяцев, с гиперэкспрессией – 5 месяцев. При этом было установлено, что наличие полиморфных вариантов гена DPC4 может являться тенденцией прогностически значимого критерия ($p_{\text{(Каплан-Майер)}} < 0,1$), в виду резкого снижения выживаемости пациентов с детектированными делециями данного гена. В зависимости от стадии распространенности опухолевого процесса было установлено, что общая выживаемость пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, с III и IV стадиями заболевания статистически значимо ниже, чем при II стадии ($p_{\text{(Каплан-Майер)}} = 0,0002$). Следовательно, исходя из полученных данных, рак поджелудочной железы является гетерогенной опухолью, характеризующийся независимыми прогностически значимыми молекулярно-биологическими маркерами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bray, F. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / F. Bray [et. al] // CA Cancer. – 2018. – Vol. 68. – № 6. – P. 394–424.
2. Sahin, I. H. Molecular signature of pancreatic adenocarcinoma: an insight from genotype to phenotype and challenges for targeted therapy / I.H.Sahin [et. al] // Expert Opinion Ther Targets. – 2016. – Vol. 20. – № 3. – P. 341–359.
3. Wood, L. D. Pathology and Molecular Genetics of Pancreatic Neoplasms / L. D. Wood, R. H. Hruban // Cancer Journal. – 2012. – Vol. 18. – № 6. – P. 492–501.
4. Pelosi, E. Pancreatic Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells / E. Pelosi [et. al] // Biomedicines. – 2017. – Vol. 65. – № 5. – P. 44–96.

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ МОЧИ – НЕИНВАЗИВНЫЙ СПОСОБ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НЕФРОПАТИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ URINE LUMINESCENCE AS A NON-INVASIVE METHOD /FOR PRECLINICAL DIAGNOSTIC OF NEPHROPATHIA IN NEWBORNS

Г. П. Зубрицкая, А. Г. Кутько, Е. И. Слобожанина
G. Zubritskaya, A. Kutko, E. Slobozhanina

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь
slobozhanina@ibp.org.by*

Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Science, Minsk, Republic of Belarus

Разработан неинвазивный экспресс-способ выявления патологии мочевой системы у новорожденных детей, заключающийся в анализе параметров собственной люминесценции мочи новорожденного. Появление в спектре люминесценции мочи максимума в области 520–540 нм свидетельствует о перинатальной нефропатии на стадии предболезни у новорожденных. Главное преимущество этого способа – неинвазивность, экспрессность, достоверность и возможность выявления патологии мочевой системы у недоношенных новорожденных.

A non-invasive express method of detecting of the urinary system pathology in newborns was developed. The method based on analysis of the intrinsic luminescence parameters of the newborn's urine. When in the luminescence spectrum of urine appeared the maximum in the region of 520–540 nm it indicates perinatal nephropathy at the stage

of pre-illness in newborns. The main advantage of this method is the non-invasiveness, expressness, authenticity and possibility of detecting the pathology of the urinary system in preterm infants.

Ключевые слова: моча, новорожденные, люминесценция.

Keywords: urine, newborns, luminescence.

Для поиска маркеров патологических процессов в организме человека используют биологические жидкости, т. к. наибольший объем информации, формирующейся в самом организме и поступающей извне, сосредотачивается и перерабатывается именно в них. К биологическим жидкостям человека относятся кровь, моча, синовиальная жидкость, слюна и другие, у беременных женщин – амниотическая жидкость и грудное молоко, пуповинная кровь [1]. Ранее в лаборатории медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси на основе изучения люминесцентных параметров плазмы крови разработан метод диагностики злокачественных заболеваний, на основе люминесцентных параметров синовиальной жидкости – дифференциальная диагностика синовитов различного генеза, с использованием спектральных параметров амниотической жидкости – способ диагностики пороков плода. Но наиболее востребованным является разработка неинвазивных методов диагностики заболеваний по моче и слюне, а также конденсатов паров выдыхаемого воздуха.

В настоящее время возросло внимание исследователей к проблеме почечной патологии у новорожденных. Интерес связан с ростом нефроурологической заболеваемости у детей раннего возраста, склонностью указанных заболеваний к хроническому течению, в ряде случаев приводящему к инвалидности. Нефроурологическая патология у детей нередко обусловлена неблагополучием в раннем онтогенезе. Частота нефропатий неонатального периода, по данным различных авторов, колеблется от 23 до 95 %, что связано с ухудшением экологического фона, увеличением перинатальной патологии и заболеваемости матерей, расширением реанимационной помощи новорожденным и внедрением современных методов диагностики [2; 3].

Цель работы – исследование люминесцентных параметров мочи для создания быстрого в исполнении и достоверного способа диагностики нефропатии новорожденных.

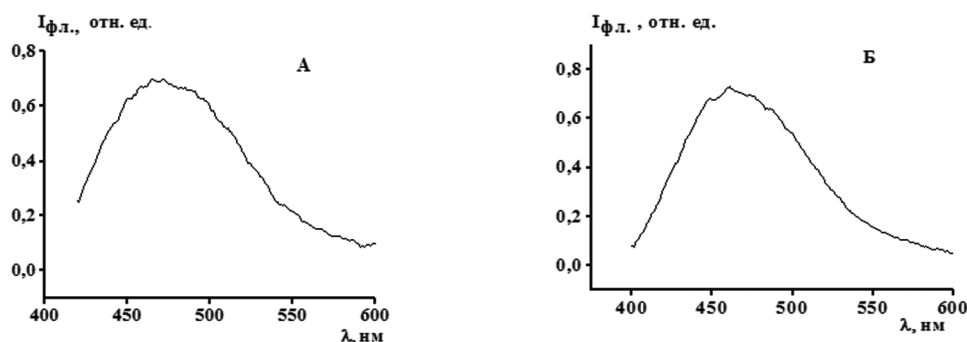
В исследовании использована моча новорожденных, страдающих перинатальными нефропатиями ($n = 30$) на стадии предболезни. Обследование новорожденных проведено сотрудниками ГУ РНПЦ «Мать и дитя». В качестве контроля собиралась моча практически здоровых новорожденных ($n = 20$), находящихся в указанном медицинском учреждении. В исследовании использовали не менее 1,0 мл мочи. Образец мочи центрифугировали для удаления нерастворимого материала. После этого осуществляли спектрофлуориметрию, причем использовали возбуждающий свет с длиной волны 375 ± 10 нм на спектрофлуориметре «СОЛАР СМ 2203» (Беларусь).

Известно, что нормальная моча люминесцирует слабым фиолетовым светом. Причем наличие сахара, солей и белка не влияют на уролюминесценцию. На воздухе уробилиноген окисляется до уробилина, который флуоресцирует. В организме уробилин образуется при многостадийном распаде гема. Сначала гем превращается в билирубин. Он выводится с желчью в двенадцатиперстную кишку, а затем разлагается микроорганизмами толстой кишки до уробиленогена, который реабсорбируется в кровоток, где превращается в уробилин и, в конце концов, выводится почками. Уробилин придает моче зеленоватый оттенок свечения, а билирубин дает ярко-желтое свечение.

Известные способы оценки функции почек у детей: определение относительной плотности мочи суточного диуреза и проба Зимницкого, у новорожденного трудно применимы. Наиболее точные методы флуоресцентной диагностики и спектроскопии существуют при раке мочевого пузыря, основывающиеся на принципах фотодинамической диагностики и цитологии мочи. Известен способ диагностики нефропатии новорожденных, который основан на использовании регистрации хемилюминесценции мочи [4]. Однако данный способ имеет следующие недостатки: необходимое для исследования количество мочи должно быть 10 мл, что трудно получить у недоношенных новорожденных с низкой массой тела; для проведения исследования требуется добавление химического реагента (серно-закисного железа).

Нами проведено исследование собственной люминесценции мочи здоровых новорожденных с массой тела от 2000 г и выше и недоношенных новорожденных с низкой массой тела от 850 г с различными патологиями (дисплазия почки, асфиксия и другие осложнения), родившихся от матерей с осложнениями беременности (гестоз, внутрипеченочный холестоз, хроническая фетоплацентарная недостаточность и другие), родоразрешение которых осуществлялось путем операции экстренного кесарева сечения. Установлено, что моча здоровых новорожденных (при возбуждении светом длиной волны 365–380 нм) имеет спектр люминесценции с максимумом в области 440–460 нм (рис. 1).

Из рис. 2 и 3, на которых приведены примеры люминесценции мочи недоношенных новорожденных, видно, что максимум в спектрах люминесценции новорожденных с нефропатией находится в области 520–540 нм. На основе полученных результатов нами совместно с сотрудниками РНПЦ «Мать и дитя» МЗ РБ разработан экспресс-способ выявления патологии мочевой системы у новорожденных детей заключающийся в анализе параметров люминесценции мочи новорожденного [5].



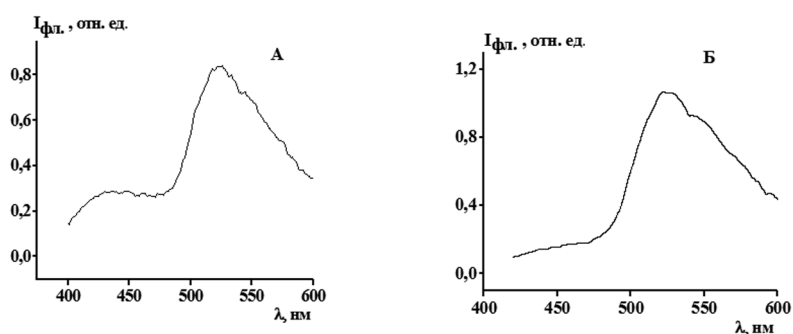
Масса тела новорожденного – 3100 г. Отсутствие функциональных нарушений почек

Условия возбуждения люминесценции:

А: длина волны возбуждения 365 нм

Б: длина волны возбуждения 380 нм

Рисунок 1 – Спектры люминесценции мочи условно здорового новорожденного Л.



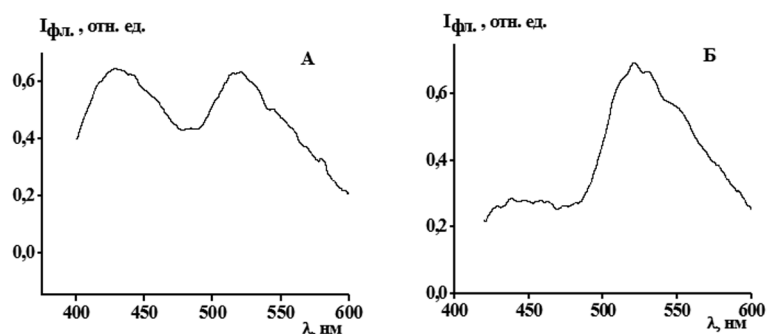
Масса тела новорожденного – 990 г. Окончательный диагноз – токсическая нефропатия

Условия возбуждения люминесценции:

А: длина волны возбуждения 365 нм

Б: длина волны возбуждения 380 нм

Рисунок 2 – Спектры люминесценции мочи недоношенного новорожденного О., родившегося в асфиксии тяжелой степени тяжести



Масса тела новорожденного – 850 г. Окончательный диагноз – нефропатия

Условия возбуждения люминесценции:

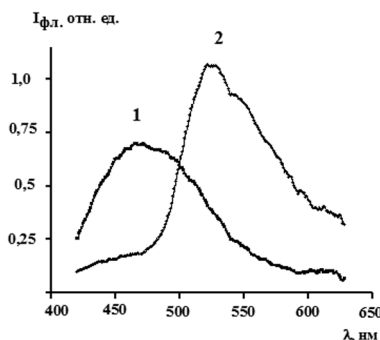
А: длина волны возбуждения 365 нм

Б: длина волны возбуждения 380 нм

Рисунок 3 – Спектры флуоресценции мочи недоношенного новорожденного Р., родившегося в асфиксии тяжелой степени

Разработанный нами совместно с сотрудниками РНПЦ «Мать и дитя» способ упрощает исследование, повышает скорость и точность диагностики перинатальных нефропатий у новорожденных. Преимущества нашего метода заключается в следующем: уменьшение количества мочи, необходимой для исследования (1,0–2,0 мл), что дает возможность использовать метод для диагностики недоношенных новорожденных с низкой массой тела; не требуется добавления химических реагентов в мочу перед исследованием. Разработанный способ можно применять на любой стадии заболевания, в том числе доклинической диагностики, а также при наличии сопутствующих

заболеваний. Данный способ прост в исполнении. Для этого исследуют спектры собственной люминесценции мочи новорожденного в области длин волн 400–650 нм и при наличии спектра люминесценции с максимумом в области 520–540 нм диагностируют перинатальную нефропатию на стадии предболезни (рис. 4). Главное преимущество этого способа – неинвазивность, экспрессность, достоверность и возможность выявления патологии мочевой системы у недоношенных новорожденных.



1 – практически здоровый новорожденный
 2 – новорожденный с перинатальной нефропатией
 $\lambda_{\text{возб.}} = 375 \pm 10 \text{ нм}$

Рисунок 4 – Спектры люминесценция мочи новорожденных

Из полученных результатов следует, что по спектрально-люминесцентным параметрам мочи можно судить о наличии перинатальных нефропатий у новорожденных, в том числе и у недоношенных. Этот метод рекомендуется использовать для доклинического выявления перинатальных нефропатий; проведения диспансерного наблюдения за новорожденными детьми, а также для наблюдения за эффективностью проводимого лечения.

Полученные результаты позволяют заключить, что способы, созданные на основе анализа параметров люминесценции биологических жидкостей человека, могут дополнить, (а иногда и заменить) многокомпонентный клинический лабораторный анализ и обеспечивать экспрессность и высокую достоверность диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукашевич, М. М. Анализ изображений биологических жидкостей / М. М. Лукашевич // Вестник фонда фундаментальных исследований. – 2013. – № 3. – С. 94–105.
2. Мараховская, В. С. Роль водно-электролитного обмена у недоношенных новорожденных в формировании синдрома дезадаптации в раннем неонатальном периоде / В. С. Мараховская // Материалы дистанционной науч.-практ. конф. молодых учёных «Фундаментальная наука в современной медицине–2018». – 2018. – С. 449–452.
3. Рагимова, Н. Д. Функциональное состояние почек новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н. Д. Рагимова. – Баку, 2007. – 26 с.
4. Юникеева, Ю. Д., Панов, П. В. Экспресс-диагностика лекарственных нефропатий у новорожденных детей / Ю. Д. Юникеева, П. В. Панов // Вестник РГМУ. – 2006. – № 2. – Т. 49. – С. 200–281.
5. Слобожанина, Е. И. Способ доклинической диагностики нефропатии у новорожденного/ пат: № 17616 Респ. Беларусь, МПК G 01N 33/493 / Е. И. Слобожанина, Г. П. Зубрицкая, А. Ф. Перковская, К. У. Вильчук, А. А. Криштафович // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2013. – № 5. – С. 130–131.