

ПРОБЛЕМИ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

УДК 541.1:577.12

Н.М. Богдан

Інститут фізико-органічної хімії та вуглехімії
ім. Л.М. Литвиненка НАН України

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗЧИНЕННЯ НАТИВНИХ ТА ШТУЧНИХ НИРКОВИХ ФОСФАТНИХ КОНКРЕМЕНТІВ

© Богдан Н.М., 2008

Досліджено фазові переходи неорганічних компонентів ниркових фосфатних конкрементів. Встановлено, що періодична зміна стаціонарних станів є принциповою особливістю сечі, яку необхідно враховувати як під час теоретичного моделювання біомінералізації, так і під час розробки практичних рекомендацій.

Fase transitions of of inorganic components for kidney phosphatic concrements was explored. It is set that periodic change stationary states is the principle feature of urine, which it follows to take into account both at the theoretical design of biomineralization processes and at the development of practical recommendations.

Актуальність роботи. Важливість проблеми сечокам'яної хвороби (СКХ) величезна – це одне з найпоширеніших урологічних захворювань. Показник щорічної захворюваності нефролітіазом у світі становить від 0,5 до 5,3 відсотків і поступово зростає. Перше місце за поширеністю займають камені нирки і різні їх варіації, друге – камені сечоводу внаслідок відходження каменів з нирок. Невтішна і статистика щодо ризику рецидиву: протягом року вірогідність рецидиву коралоподібного каменя досягає 10%, а протягом 5 років – 50% за відсутності адекватного лікування. СКХ виявляють в будь-якому віці, але найчастіше – в працездатному (у 30–55 років). Методи лікування пацієнтів з СКХ різноманітні, але їх можна розділити на дві основні групи: консервативні і оперативні. Вибір методу лікування залежить від багатьох чинників, але всеж-таки СКХ – це насамперед хірургічне захворювання, тому консервативна терапія не розглядається як альтернатива видаленню каменя [1].

В останні десятиліття в лікуванні СКХ був досягнутий істотний прогрес. Передусім, це пов'язано з впровадженням в клінічну практику методу дистанційної літотрипсії (ДЛТ): сьогодні для 80% пацієнтів з СКХ використовується метод ДЛТ. Цей метод успішно застосовується практично при всіх каменях нирок і сечоводів розміром до 25 мм. ДЛТ – перспективний і високоефективний метод лікування, але потрібно пам'ятати, що роздробити камінь – це тільки перша частина завдання. Найвідповідальнішим моментом в лікуванні нефролітіазу за допомогою методу ДЛТ є забезпечення виходу фрагментів.

Часто під час дроблення крупних каменів на УЗІ спостерігаються доріжки від ниркової балії до сечового міхура, що складаються з величезної кількості піску. Наслідком одномоментного виходу такої кількості дрібних фрагментів може стати обструкція сечоводу, частота якої сьогодні становить 24 %, а результатом цього може стати обструктивний піелонефрит. У зв'язку з цим використання ДЛТ як ізольованого методу лікування є неприпустимим.

Тому в сучасній урології значна увага приділяється комбінованим методам лікування сечокам'яної хвороби. Одним з перспективних є поєднання методу ESWL з висхідним літолізом [2], що здатне істотно полегшити швидкість та безпечність виходу уламків після ДЛТ та значно зменшити процент рецидивів. Природно, що основа розробки ефективних літолітичних розчинів та прийомів їх клінічного застосування має ґрунтуватися на розумінні процесів утворення та розчинення ниркових конкрементів. У роботі узагальнені результати дослідження впливу концентраційних чинників на розчинення фосфатних ниркових конкрементів.

Мета роботи. Дослідження впливу рН середовища літолітичних розчинів на швидкість і ступінь розчинення гідрофосфату CaHPO_4 та фосфату кальцію $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – як у зразках реагентів, так і у складі штучних і нативних фосфатних конкрементів.

Наукова новизна одержаних результатів. Доведено, що періодична зміна стаціонарних станів є принциповою особливістю сечі, яку варто враховувати під час теоретичного моделювання процесів, що відбуваються в ній, і під час розроблення клінічних методик.

Матеріали та методи. У дослідженні використані нативні та штучні фосфатні конкременти вагою 0,1 – 0,5г. Зразки гідро- та ортофосфату кальцію отримували переосадженням з водних розчинів, використовуючи зернини розміром 0,2 – 0,25мм.

Штучні конкременти отримували з гомогенних розчинів водорозчинних полімерів (полівінілацетат, полівініловий спирт, желатин тощо) і препаративного $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ з розміром зерен ~ 0,01 мм. Нативні, свіжовидалені оперативним способом, конкременти використовувалися лише у тому випадку, коли вони мали виразне чергування (0,01 – 0,1 мм) шарів мінеральної та органічної складових. Шаруватість каменів візуалізувалася фарбуванням барвником Кумассі R-250.

Відомо, що шаруваті фосфатні камені є винятково твердими і утворюються в нирках за мінімальних для фосфатних каменів відхилень від "норми" добових значень рН, частотно-амплітудних характеристик їх коливань і низьких концентраціях білку в сечі. У міру подальшого руху до "норми" вказаних характеристик сечі, у фосфатних каменях послідовно зростає вміст оксалата кальцію. Навпаки, із зростанням патології, що супроводжується зростанням рН сечі, "лужною нерухомістю" та високою протеїнурією, в каменях зростає вміст струвіту – магній-аммонійної солі ортофосфорної кислоти (MgNH_4PO_4). Тому хімічний склад та структурна однорідність використаних у дослідженні фосфатних конкрементів контролювалися за допомогою ІК-спектроскопії. Розчинність препаративного $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, а також штучних і нативних каменів вивчалася в ацетатних буферних розчинах і літолітичних композиціях, що містять динатрієву сіль етілендіамінтетрауксусної кислоти (трілон Б). Літолітичні розчини готували на сольовому розчині, що моделює сечу [3], задані значення їх рН в інтервалі 4,0 – 6,0 досягалися додаванням піперазину гексагідрату. Швидкість розчинення зразків (V) розраховували за формулою: $V = (m_0 - m_t)/m_0 \cdot 100\%$, де m_0 , m_t – маси зразка в початковий та поточний час розчинення. Розрахунки рівноважних характеристик фосфатно-ацетатних систем виконували розв'язанням відповідних рівнянь [4] для системи: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 2 \text{HAc} \rightleftharpoons \text{Ca}(\text{Ac})_2 + 2 \text{CaHPO}_4$. Отримані експериментальні дані оброблялися методами математичної статистики [5].

Експериментальна частина. Залежність рівноважної розчинності $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (S) від рН в інтервалі 4,0 – 5,0 показано на рис. 1. Ця залежність описується прямою з $r = 0,999$ і $S = 0,967$. До того ж з'ясувалось, що деякі експериментальні значення, які відповідають $S_{\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2}$ в цій області рН, згідно з статистичним критерієм 3σ [6], достовірно відхиляються від лінії регресії.

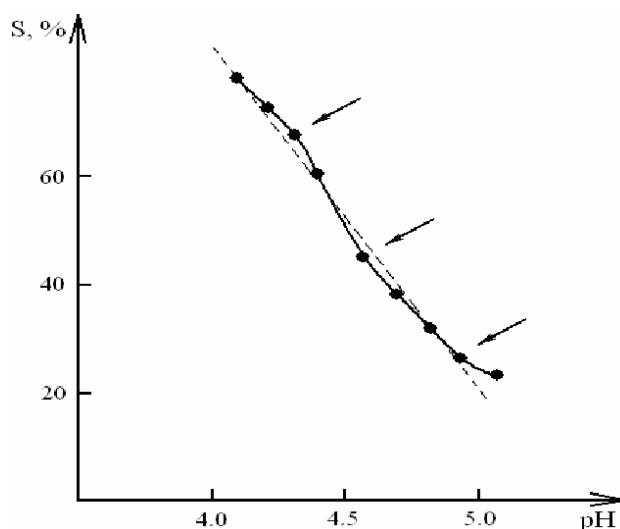


Рис. 1. Залежність розчинення препаративного $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в ацетатному буфері від рН середовища

Це можна пояснити тим, що у вказаній області рН присутні сполуки CaP_i , що помітно відрізняються за рівноважною розчинністю. Аналогічне явище вже відзначалося в літературі під час експериментального визначення та теоретичних розрахунків рівноважної розчинності фосфатів кальцію і пояснювалося фазовими переходами. Так, під час розрахунків простоювання потрібної системи $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ в межах рН 4 – 8 в роботі [6] було знайдено 3 сингулярних точки, відповідні до переходу в двозаміщений фосфат кальцію ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) більш основних солей: октакальцій-фосфату, ортокальцій-фосфату та гідроксилапатиту. При цьому дві з трьох зареєстрованих сингулярних точок визначалися авторами при рН 4,3 і 4,8. З порівняння результатів робіт [7, 8], в яких розглядалися взаємні перетворення різних форм фосфату кальцію (брушит – октакальцій-фосфат, брушит – трикальцій-фосфат) очевидно, що положення сингулярних точок в шкалі рН дуже залежить від різних фізико-хімічних параметрів розчину і, насамперед, – від концентрації і співвідношення концентрацій у ньому різних сполук. Вказані фазові переходи в роботі [9] спостерігалися при значеннях рН 5,9 і 6,4, в роботі [10] – при рН 6,7 і 7,0, а в роботі [11] перший фазовий перехід знайдено при рН 5,2. Така висока чутливість положення сингулярних точок до складу розчину пояснювалася можливістю утворення в ньому нових речовин, асоціатів, кластерів і інших молекулярних утворень CaP_i , що відрізняються за розчинністю. Було виконано аналогічні розрахунки взаємних перетворень фосфатів кальцію в ацетатних буферних системах при різних початкових і кінцевих значеннях рН з урахуванням утворення у розчинах комплексів $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$ та CaAc^+ . Результати розрахунків свідчать, що залежність $S = f(\text{pH})$ не є лінійною (рис. 2).

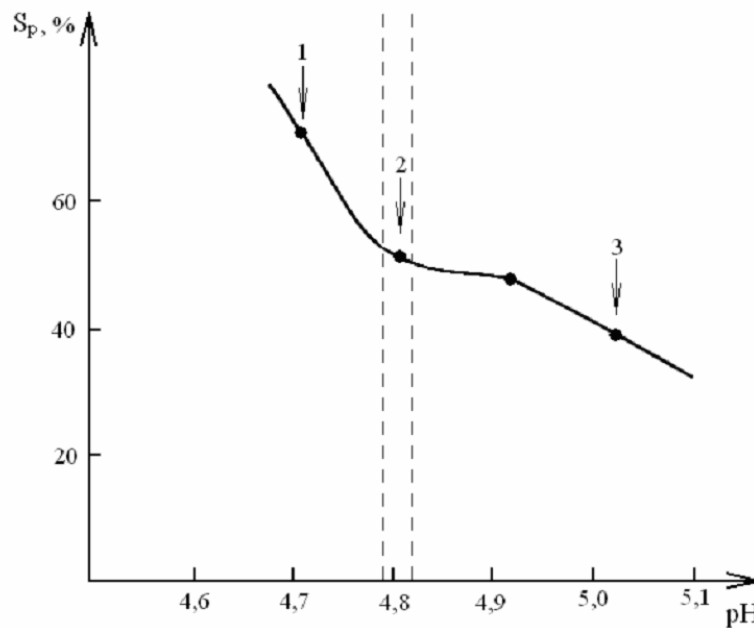


Рис. 2. Залежність теоретично розрахованої рівноважної розчинності $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (S_p) від рН ацетатного буфера. Стрілками 1–3 позначені області переважного існування CaHPO_4 , $\text{CaHPO}_4 + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ відповідно

Це пов'язано з утворенням твердої фази з різним співвідношенням CaHPO_4 та $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Виявилось, що співвідношення цих форм фосфатів як у твердій фазі, так і в розчинах справді залежить від численних параметрів системи: початкової концентрації фосфату кальцію в розчині, його буферної ємності, йонної сили тощо. Внаслідок цього розрахунок дає сімейство кривих, положення перегину на яких візуально визначається у широкому діапазоні значень рН. До того ж виявилось, що знайдені положення точок фазового переходу в шкалі рН диференціюванням відповідних кривих мало залежать від складу розчину. Це ілюструється даними рис. 3, де зображено залежності зміни експериментально знайдених швидкостей розчинення штучних (а) і нативних (б) конкрементів від рН ацетатного буферного розчину, що містить в своєму складі 0,05 М трилону Б.

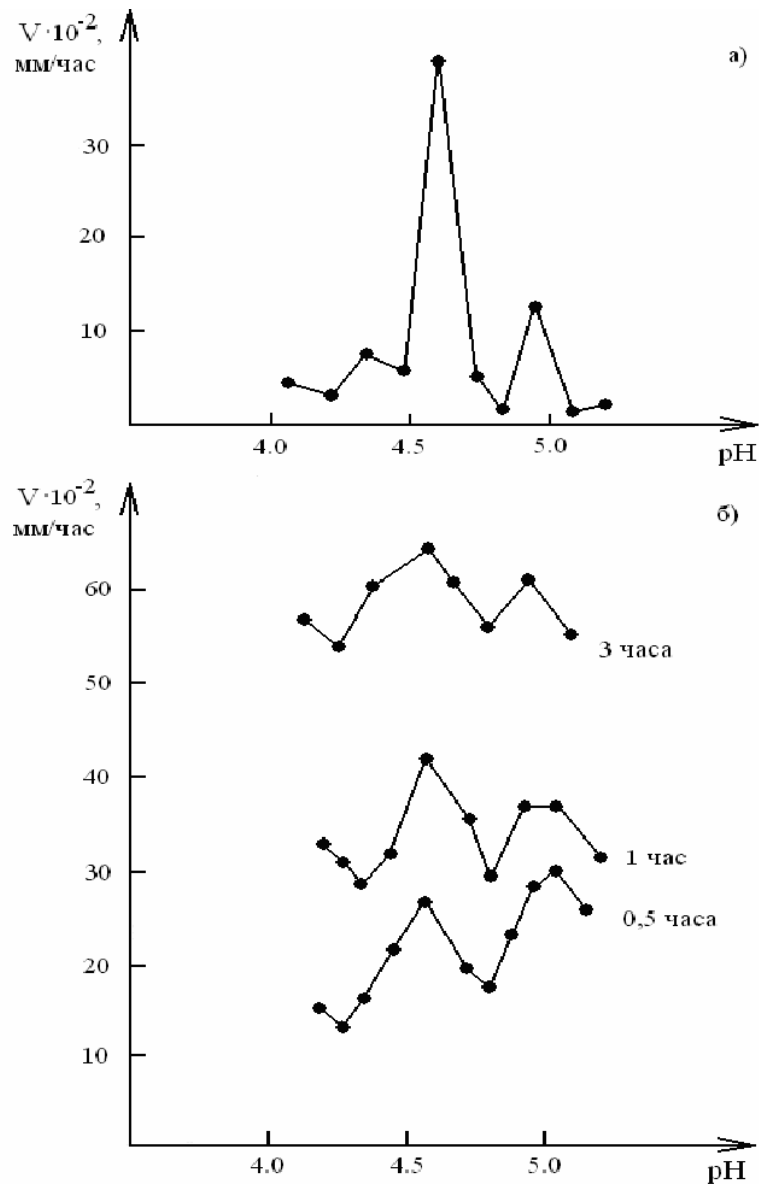


Рис. 3. Залежність швидкості розчинення штучних (а) та нативних (б) фосфатних конкрементів від рН розчину

Справді, незважаючи на склад літолітичних розчинів, що істотно розрізняється, положення точок у шкалі рН, що відповідають екстремальній швидкості розчинення штучних і нативних конкрементів на рис.3, повністю збігається з точками перегину рівноважної розчинності $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ на рис. 1 (рН = 4,30, 4,55 і 4,95). При цьому, якщо відмінності рівноважної розчинності $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ на рис. 1 при таких значеннях рН розчину досягають лише $\approx 2\%$, то відмінності швидкостей розчинення конкрементів з CaP_i (рис. 3) сягають сотень відсотків. Своєю чергою, з рис. 3 також зрозуміло, що співвідношення екстремальних значень швидкостей розчинення конкрементів залежить від часу їх літолізу. Якщо при півгодинному розчиненні це відношення становить 2, то за 3 години безперервного літолізу воно зменшується до 1,2. Подальше збільшення часу безперервного розчинення каменів приводить до подальшого стирання екстремумів на залежностях $V = f(\text{pH})$ і, в межах, виходить залежність рівноважної розчинності конкременту від рН розчину, аналогічна до показаної на рис. 1. Порівнюючи залежності 3 (а) і 3 (б), легко бачити, що для штучних конкрементів зміна рН розчину на 0,5 одиниці приводить до 5,5-кратної зміни швидкості їх розчинення. Для нативних каменів ці відмінності також істотні, хоч і не перевищують 1,5. Одержані швидкості розчинення штучних та нативних каменів, ймовірно, обумовлені особливостями структурних неоднорідностей цих конкрементів.

На відміну від штучних конкрементів (максимальна гомогенність органічної матриці та заданими зернинністю препаративного $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), зразки нативних конкрементів характеризуються істотно вираженою зонально-радіальною структурою та різноманітними хімічними неоднорідностями. Виявлено, що швидкість розчинення нативних фосфатних конкрементів у шкалі рН проходить через ряд екстремумів, обумовлених фазовими переходами різних форм фосфату кальцію. Причому чим однорідніші конкременти, тим істотніше фазові переходи відбиваються на швидкості розчинення конкременту загалом. Очевидно, що ці обставини варто використовувати під час розробки технологій розчинення фосфатних каменів при висхідному і нисхідному літолізі.

Значення рН сечі здорових людей змінюються у доволі складному режимі [12]. Так, для них Фур'є-розкладанням зміни рН сечі вдається виділити коливання з періодами від декількох десятків хвилин до діб з амплітудою, що досягає кількох одиниць [13]. Крім того, для хворих на фосфатний нефролітиаз, разом з істотним зростанням рН сечі, є характерним бідніший коливальний спектр рН, а подальший розвиток захворювання приводить до так званої "лужної нерухомості". Тому важливим є розуміння процесів, що підтримують коливальний режим зміни рН сечі в нормі, а також процеси, що зменшують її коливання.

У літературі обговорювалися умови утворення в сечі мікрогетерогенної фази малорозчинних речовин [14]. Наголошувалося [15], що утворення в сечі частинок CaP_i розміром 0,01 мкм можна розглядати як один з "захисних механізмів" зародження і подальшого зростання фосфатних конкрементів. Модельні експерименти і теоретичні розрахунки свідчать, що утворення (і подальше розчинення) мікрогетерогенної фази супроводжуються взаємними перетвореннями $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \leftrightarrow \text{CaHPO}_4$ та послідовними змінами рН розчину. Це підтверджується отриманими нами результатами, що показані на рис. 2.

Справді, розчинення CaHPO_4 приводить до зростання рН розчину. Зростання рН, своєю чергою, обумовлює пересичення розчину різними формами фосфату кальцію і приводить до утворення мікрогетерогенної фази з найменше розчинної речовини – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Видалення, отже, з розчину відповідних катіонів і аніонів, своєю чергою, підкислює розчин і сприяє розчиненню суспензії з $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Цей ланцюг перетворень повертає розчин до початкового значення рН та початкових форм фосфатів кальцію. Циклічне перетворення різних форм фосфатів кальцію можна розглядати не тільки як захисний механізм від утворення конкрементів в нирці, але і як механізм, що підтримує коливання в ній рН сечі. Амплітуда зміни рН в такій системі залежить від початкових значень рН сечі, її буферних властивостей, іонної сили, природи і концентрації комплексонів та інших її фізико-хімічних характеристик, що було досліджено експериментально.

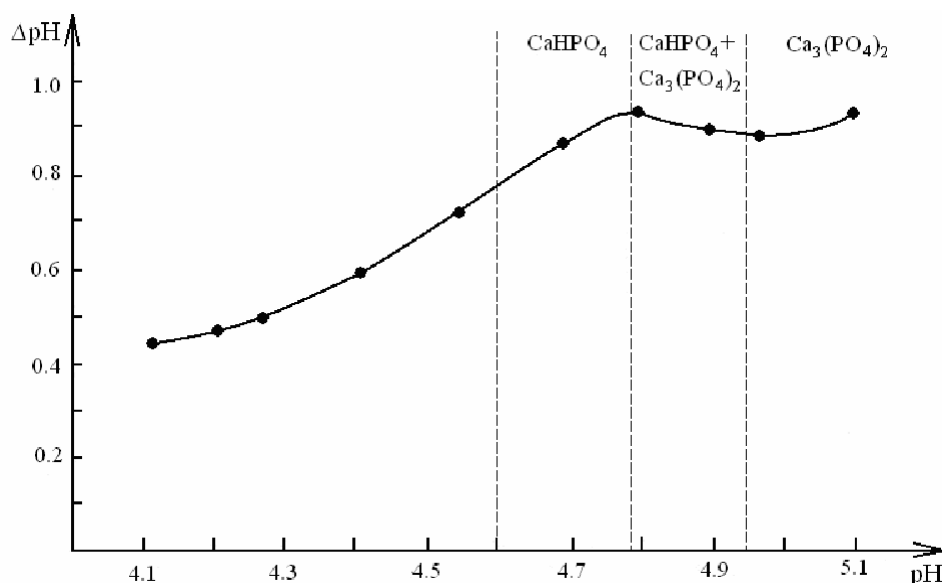


Рис. 4. Залежність зміни ΔpH ($\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{кін.}} - \text{pH}_{\text{поч.}}$) від початкового рН ацетатного буфера при розчиненні в ньому $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Залежність на рис.4 демонструє, наскільки збільшується рН модельного буферного розчину залежно від початкових значень рН при розчиненні в ньому $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. З рисунка зрозуміло також, що взаємне перетворення фосфатів кальцію за розглянутим вище циклічним механізмом здатне підтримувати істотні коливання рН модельного розчину. Ймовірно, що інші складові сечі також здатні впливати на її частотно-амплітудні параметри.

Висновки. Доведено, що періодична зміна стаціонарних станів є принциповою особливістю сечі, яку потрібно враховувати під час теоретичного моделювання процесів, що відбуваються в ній, і під час розробки клінічних методик.

На модельних системах та нативних фосфатних конкрементах хворих на СКХ встановлено, що в області, характерній для фазових переходів різних фосфатів кальцію, сумарний процес розчинення фосфатних конкрементів прискорюється розчинами, значення рН яких періодично змінюються.

Для прискорення розчинення фосфатних конкрементів у нирці людини доречним є використання літолітичних розчинів у коливальному режимі рН у межах фазових переходів фосфатів.

1. Дзеранов Н.К., Бешлиев Д.А. Лечение мочекаменной болезни — комплексная медицинская проблема // *Consilium—medicum: приложение . Урология*. 2003. стр. 18–22. 2. Bilobrov V.M., Roy A., Bilobrov S.V. Estimating the effectiveness of various methods of evacuation of kidney stones, on the basis of data obtained on percentage of “stone free” and recurrent stone formation // *International Urology and Nephrology*. – 2001. – № 33. – P. 335 – 340. 3. Растворение мочекислых камней. / В.М.Билобров, Л.М. Литвиненко, Ю.Г. Единый и др. // *Урол. и нефрол.* – 1986. – № 2. С. 33 – 38. 4. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ. – М., 1982, – 488 с. 5. А.Н. Цветков, В.А. Епанечников. Прикладные программы для ЭВМ. – М.: Финансы и статистика, 1984. – 175 с. 6. Фосфор в окружающей среде / Под. ред. Э. Гриффита. – М.: Мир, 1977. – 760 с. 7. Meyer J.L. Phase Transformations in the spontaneous precipitation of calcium phosphate. – *Croat. Chem. Acta*, 1983. – Vol. 56, № 4. – P. 753 – 767. 8. Proc. of the Int. Symp. Precipitation and Interfacial Phenomena in Mineralization in Biological and Biopolymer Matrices. // *Croat. Chem. Acta*, 1983. – Vol. 56, № 4. – P. 554 – 315. 9. Mineral phases of calcium phosphate / G.H. Tancollaa, M. Loke, L. Peres, C. Richardson et al. // *AnaS. Record*. 1989. – Vol. 224, № 2. – P. 234 – 241. 10. Hancdla G.H. The Mechanism of Precipitation of Biological Minerals. The Phosphates Oxalates and Carbonates of Calcinne. – *Croat. Chean. Acta*, 1983. – Vol. 56, № 4. – P. 741 – 752. 11. Furedi – Milhofer H., Marlcovic M., Cezelac M. Precipi tation and solibility of calcium phosphates and oxalates in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{C}_2\text{P}_4\text{-NaCl- H}_2\text{O}$ // *J. Crystal Growta*. – 1987. – Vol. 80, № 1. – P. 60 – 68. 12. Билобров В.М., Чугай А.В. Химический состав почечных конкрементов и биохимические показатели мочи. // *Рукопись деп. в ВИНИТИ 30.07.87, № 5449-В87*. – Донецк, 1987. – 20 с. 13. Биохимические особенности среды: Химический состав и строение почечных конкрементов / В.М. Билобров, А.В. Чугай, Ю.Г. Единый и др. // *Структура органических соединений и механизмы реакций Сб. науч. тр.* – Киев: Наукова думка, 1986. – С.126 – 157. 14. Smith L.H, Meyer J.L. Urinary inhibitors of calcium oxalate crystal gronth // *Colloguium on Renal Lithiasis / Eds. B. Pinlaysen., W.C; Thomas*. – Gcinsville: Florida University Press, 1976. – P. 112 – 118. 15. Физико-химические основы биоминерализации / В.М. Билобров, А.В. Чугай и др. // *Минералогический сб.* – Львов, 1991. – Т.41. С. 59 – 63.