



Вестник

ВОЛГОГРАДСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО
МЕДИЦИНСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор

В. И. Петров, академик РАМН

Зам. главного редактора

М. Е. Стаценко, профессор

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

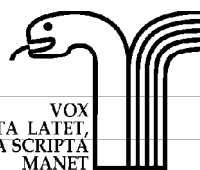
А. Р. Бабаева, профессор
А. Г. Бебуришвили, профессор
А. А. Воробьев, профессор
С. В. Дмитриенко, профессор
В. В. Жура, доцент
М. Ю. Капитонова, профессор
(научный редактор)
С. В. Клаучек, профессор
Н. И. Латышевская, профессор
В. Б. Мандриков, профессор
И. А. Петрова, профессор
В. И. Сабанов, профессор
Л. В. Ткаченко, профессор
С. В. Туркина (ответственный секретарь)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А. Б. Зборовский, академик РАМН
(Волгоград)
Н. Н. Седова, профессор
(Волгоград)
А. А. Спасов, чл.-кор. РАМН
(Волгоград)
В. П. Туманов, профессор
(Москва)
А. К. Косоуров, профессор
(Санкт-Петербург)
Г. П. Котельников, академик РАМН
(Самара)
П. В. Глыбочко, чл.-кор. РАМН
(Саратов)
В. А. Батурин, профессор
(Ставрополь)

3 (31)

**ИЮЛЬ–
СЕНТЯБРЬ
2009**



VOX
AUDITA LATET,
LITTERA SCRIPTA
MANET

ИЗДАТЕЛЬСТВО
ВОЛГМУ

ISSN 1994-9480



9 771994 948340 >

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВИНЫ НА КОЖЕ

О. А. Арестова, Г. П. Дудченко

Кафедра теоретической и клинической биохимии ВолГМУ

Изучена возможность использования кожного экскрета в качестве биоматериала для определения содержания мочевины. Экспериментально подобраны оптимальные условия забора экскрета кожи способом аппликации.

Ключевые слова: мочевина, кожный экскрет, аппликация, преаналитический этап.

OPTIMIZATION OF PREANALYTICAL STAGE OF QUANTIFICATION OF UREA CONTENT IN SKIN

O. A. Arestova, G. P. Dudchenko

The paper studies the possibility of using skin excretion as biomaterial for quantification of urea content. The study experimentally selected optimum conditions for skin excretion sampling by way of application.

Key words: urea, skin excretion, application, preanalytical stage.

В последние годы все больше внимания со стороны исследователей различных профилей уделяется новым, неинвазивным способам отбора материала для биохимического анализа. Преимущества их использования по сравнению с инвазивными состоят в том, что полностью исключается возможность инфицирования человека и снижается до минимума стрессовое воздействие при взятии проб. Точность любого метода определения напрямую зависит от способа отбора проб биологического материала, и поэтому большое внимание должно уделяться стандартизации условий проведения преаналитического этапа отбора образцов неинвазивным способом.

Определение концентрации мочевины является важным диагностическим параметром при целом ряде заболеваний, особенно при заболевании почек и выделительной системы [1].

По причине хорошей растворимости в воде мочевина легко переносится кровью и выводится с мочой, а при недостаточной активности функции почек роль выделительного органа частично берет на себя кожа и другие биологические жидкости [4].

Общепринятым диагностическим объектом для определения мочевины является плазма (сыворотка) крови и моча [2], однако этот метаболит можно исследовать и в некоторых других биологических образцах (например, в слюне или кожном экскрете) [3].

Определение мочевины в моче связано с рядом неудобств, во-первых, эстетических (забор образцов), во-вторых, анализ предполагает работу с суточной мочой, что не всегда устраивало испытуемых по некоторым параметрам (например, необходимость отбора биологической жидкости после кратковременной физической нагрузки). Определение мочевины в слюне требует активной позиции испытуемого в вопросе забора образца, что не всегда осуществи-

мо при работе с группой больных людей. Кроме того, саливация тесно связана с проблемой трофики и имеет многофакторную зависимость (исходное гигиеническое состояние, заболевания полости рта, ритм питания) [4].

В связи с вышесказанным в качестве альтернативного крови образца представляется удобным объектом исследования кожный экскрет.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Подбор оптимальных условий проведения преаналитического этапа определения мочевины в кожном экскрете.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве вариантов забора кожного экскрета рассматривались смыв и адсорбция аппликатором из фильтровальной бумаги. Первый способ отбора проб для получения надежных и воспроизводимых результатов требует оценки площади поверхности смыва и его эффективности, определения потерь аналитической жидкости при переносе в пробирки, анализа исходного гигиенического состояния кожи. Таким образом, мы остановились на отборе проб кожного экскрета вторым способом.

Оптимальный размер аппликатора для взятия проб с кожи подбирали экспериментально. Основными критериями удовлетворительного размера аппликатора для предполагаемого исследования являлись:

- аналитически определяемое количество мочевины, экстрагируемое данным размером аппликатора с поверхности кожи;
- оптимальное соотношение реактив/аппликатор (так как определение мочевины с кожи проводили без предварительной ее экстракции в раствор);

- аналитический резерв (диапазон линейности), позволяющий определять предположительно повышенное содержание мочевины на коже больных с почечной недостаточностью по сравнению со здоровыми людьми, без изменения размера аппликатора.

На первом этапе были исследованы 4 варианта размеров квадратных аппликаторов с длиной стороны от 0,5 до 2 см.

На втором этапе исследования готовили квадратные аппликаторы из разных типов фильтровальной бумаги с целью изучения адсорбтивно-десорбтивных свойств бумаги (для решения этой задачи использовали продукцию фирмы FILTRAK: 1-й тип — хроматографическая бумага FN1, 2-й тип — беззольная фильтровальная бумага сорт 391 «синяя лента», 3-й тип — беззольная фильтровальная бумага сорт 388 «черная лента»).

Десорбтивные свойства трех типов бумаги исследовали, сравнивая заведомо известное количество мочевины, нанесенное на аппликатор в виде калибровочных растворов мочевины в диапазоне концентраций 0,9—20 ммоль/л, с определяемым количеством мочевины при внесении растворов той же калибровочной линейки исследуемого вещества непосредственно в пробирку (стандартной калибровкой). Для определения концентрации исследуемого вещества использовали коммерческий набор фирмы «АГАТ-Мед», предназначенный для определения мочевины в крови, основанный на взаимодействии карбамида с диацетилмоноксидом в сильноокислой среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа с образованием красного комплекса, интенсивность которого пропорциональна концентрации мочевины в пробе.

Адсорбтивные свойства бумаги исследовали, сравнивая заведомо известное количество мочевины, нанесенное на кожу в виде калибровочных растворов мочевины в диапазоне концентраций 0,9—20 ммоль/л и снятое с нее аппликатором с пробирочной калибровкой. Предварительно кожа была тщательно обработана, что исключало присутствие в биопробах содержания дополнительного количества мочевины.

На внутреннюю поверхность кожи запястья руки (где отсутствует волосяной покров) наносились 20 мкл калибровочного раствора мочевины и адсорбировались аппликатором из фильтровальной бумаги размером 1×1 см до полного высыхания. Анализируемые пробы переносили в пробирки с рабочим реактивом и проводили стандартную процедуру определения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вариации размера аппликатора приведены в табл.

Вариации размера аппликатора

Номер исследуемого аппликатора	Сторона аппликатора, см	Площадь аппликатора, см ²	Оптимальный объем воды для смачивания, мкл	Объем рабочего реактива, мл
1	0,5	0,25	7,5	2
2	1	1	20	2
3	1,5	2,25	40	2
4	2	4	60	2

Для полного смачивания аппликатора № 1 потребовалось 7,5 мкл воды. Такой объем для аналитических определений оказался недостаточным (при внесении образца предложенным объемом в пробирку часть раствора оставалась в наконечнике, а при нанесении того же объема на аппликатор весь раствор адсорбировался на бумаге).

Для смачивания аппликаторов № 3 и 4 потребовалось 40 и 60 мкл воды соответственно, что существенно увеличило время до полного высыхания (10—15 минут). Кроме того, большая площадь аппликаторов (2,25 и 4 см²) существенно сократила возможность отбора кожного экскрета для повторных определений в рамках одной серии (на поверхности запястья помещалось ограниченное число аппликаторов, что не отвечало запросам испытателя). Кроме того, переносить такие аппликаторы в пробирки стандартного размера крайне неудобно, приходилось сворачивать их, как минимум, пополам, что затруднило бы десорбцию вещества с аппликатора в аналитический раствор. Большой размер аппликатора потребовал большего расхода рабочего реактива (2 мл рабочего реактива оказалось недостаточным для аналитического определения).

Оптимальным для забора кожного экскрета оказался аппликатор № 2 (1×1 см). Для полного смачивания аппликатора требуется 20 мкл дистиллированной воды, что обеспечивает адсорбцию мочевины с поверхности кожи 1 см².

Результаты по исследованию десорбтивных свойств разных типов бумаги приведены на рис. 1.

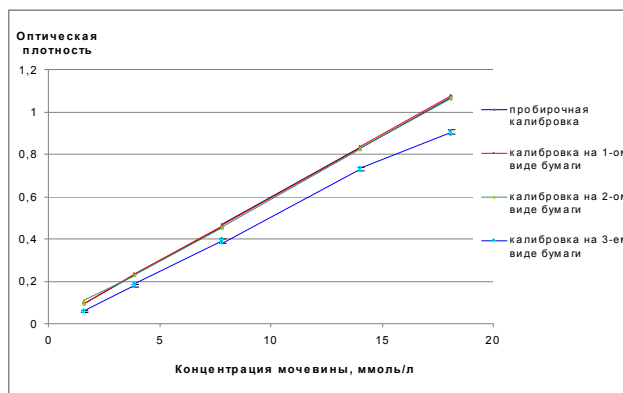


Рис. 1. Калибровочные кривые мочевины при десорбции вещества аппликаторами из различных типов бумаги

Результаты по исследованию адсорбтивных свойств разных типов бумаги приведены на рис. 2.

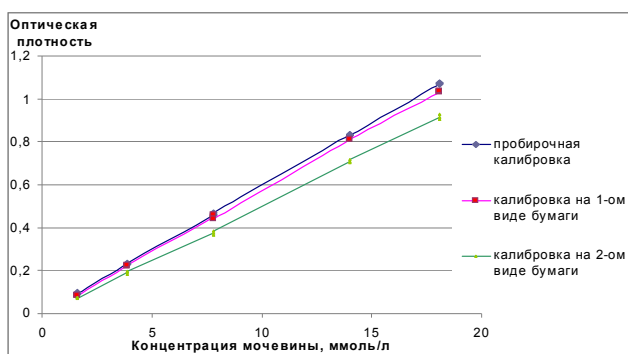


Рис. 2. Калибровочные кривые мочевины при адсорбции вещества аппликаторами из различных типов бумаги

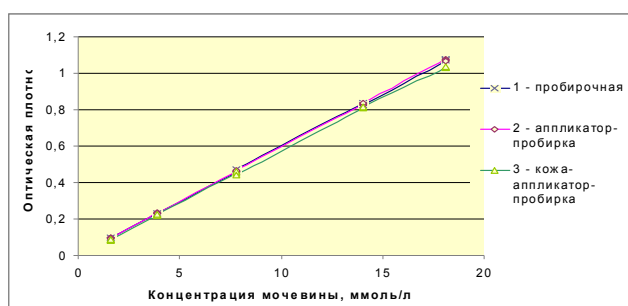


Рис. 3. Калибровочные кривые мочевины при десорбции и адсорбции вещества хроматографической бумагой FN1:

1 (пробирочная) — проба вносилась непосредственно в реакционную смесь; 2 (аппликатор—пробирка) — проба (20 мкл) вносилась на аппликатор, а затем вместе с аппликатором в реакционную смесь; 3 (кожа—аппликатор—пробирка) — проба наносилась на обработанную поверхность кожи, затем адсорбировалась аппликатором и переносилась в реакционную смесь

По результатам сравнения полученных значений калибровочных кривых мы отказались от третьего типа бумаги по причине плохих десорбтивных свойств и от второго типа бумаги по причине плохих адсорбтивных свойств. Хорошие адсорбтивно-десорбтивные свойства показала бумага 1-го типа, поэто-

му для изготовления аппликаторов для исследования содержания мочевины в кожном экскрете мы выбрали хроматографическую бумагу FN1 фирмы FILTRAK.

Отсутствие достоверных различий между тремя графиками отображенных зависимостей свидетельствуют о том, что данный тип бумаги обладает хорошими адсорбтивными и десорбтивными свойствами и обеспечивает полный перенос мочевины с поверхности кожи в аналитический раствор в исследованном диапазоне концентраций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы был экспериментально подобран размер аппликатора, позволяющий отобрать экскрет с поверхности кожи площадью 1 см² и имеющий аналитический резерв определения для оценки предположительно высоких значений мочевины на коже больных с хронической почечной недостаточностью, также был определен тип бумаги с хорошими адсорбтивно-десорбтивными свойствами для изготовления аппликаторов, отвечающий задачам исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вандер А. Физиология почек. Пер. с англ. — СПб.: Питер, 2000. — 256 с.
2. Данилова Л. А. Анализы крови и мочи. — СПб.: Салит-Мед. книга, 2000. — 128 с.
3. Комарова Л. Г., Алексеева О. П. Саливатория. — Нижний Новгород: издательство Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. — 108 с.
4. Храмов В. А., Гурина Е. Ю. // Химия в школе — М.: РАО, изд-во «Центрхимпресс», 2005. — № 10. — С.63.

Контактная информация

Арестова Ольга Алексеевна — аспирант кафедры теоретической биохимии с курсом клинической биохимии Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: olgaarestova@mail.ru

<i>Калягин А. Н.</i> ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ МИТРАЛЬНО- АОРТАЛЬНЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА	<i>Kalyagin A. N.</i> FORECASTING THE COURSE OF CHRONIC HEART FAILURE IN PATIENTS WITH MITRAL VALVULAR DISEASE	50
<i>Арестова О. А., Дудченко Г. П.</i> ОПТИМИЗАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВИНЫ НА КОЖЕ	<i>Arestova O. A., Dudchenko G. P.</i> OPTIMIZATION OF PREANALYTICAL STAGE OF QUANTIFICATION OF UREA CONTENT IN SKIN	54
<i>Тихонов С. Н., Ротов К. А., Алексеев В. В., Снатёнков Е. А., Храпова Н. П.</i> ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ЦЕФАЗОЛИНА	<i>Tikhonov S. N., Rotov K. A., Alekseev V. V., Snatenkov E. A., Khrapova N. P.</i> ENZYMATIC ACTIVITY OF LIVER IN EXPERIMENTAL ANIMALS UPON INTRODUCTION OF LIPOSOMAL ZEFAZOLIN	57
<i>Аксёнова Т. А., Горбунов В. В., Пархоменко Ю. В.</i> АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ, ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЯ И ДРУГИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЦА У СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА	<i>Aksionova T. A., Gorbunov V. V., Parkhomenko U. V.</i> ARTERIAL HYPERTENSION, HYPERCHOLESTEROLEMIA AND OTHER CARDIAC RISK FACTORS IN MEDICAL STUDENTS	60
<i>Вохминцева Л. В., Рымарь С. С.</i> КИСЛОРОДЗАВИСИМАЯ БИОЦИДНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У КРЫС С ВОСПАЛЕНИЕМ В ПАРОДОНТЕ, ПРОТЕКАЮЩИМ НА ФОНЕ ГИПОТИРЕОЗА	<i>Vokhmintseva L. V., Rymar S. S.</i> OXYGEN-RELATED BIOCIDITY OF NEUTROPHILS IN RATS WITH PARODONTAL INFLAMMATION IN HYPOTHYROIDISM	63
<i>Инжуртова А. И.</i> ИНГИБИТОРЫ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА (АПФ) С ВЫСОКОЙ ТРОПНОСТЬЮ К КТАНЕВОМУ (ЭНДОТЕЛИАЛЬНОМУ) АПФ ЯВЛЯЮТСЯ ПРЕПАРАТАМИ ВЫБОРА ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ, ОСЛОЖНЕННОЙ ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ	<i>Inzhutova A. I.</i> INHIBITORS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME WITH HIGH TROPISM TO TISSUE (ENDOTHELIAL) ACE ARE DRUGS OF CHOICE IN HYPERTENSION COMPLICATED BY ACUTE LESION OF CEREBRAL CIRCULATION	67
<i>Новичков Е. В.</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ РИСКА РЕЦИДИВА ОВАРИАЛЬНОГО РАКА ПО ДАННЫМ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ	<i>Novichkov Ye. V.</i> DEFINING RISK DEGREE OF OVARIAN CANCER RECURRENCES USING MORPHOMETRICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL RESEARCH OF A PRIMARY TUMOR	70
<i>Тодоров С. С.</i> ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ АОРТЫ ПРИ КОАРКТАЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ	<i>Todorov S. S.</i> PATHOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF AORTIC CHANGES IN COARCTATION IN INFANTS	73
<i>Наумова В. В., Земцова Е. С.</i> МЕДЛЕННО-ВОЛНОВАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СОСУДИСТОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ В ЗРЕЛОМ ВОЗРАСТЕ (I ПЕРИОДЕ)	<i>Naumova V. V., Zemtsova E. S.</i> SLOW-WAVE VARIABILITY OF VASCULAR CIRCULATION IN ADULTS (PERIOD I)	76
<i>Спиридонов Е. Г., Акинчиц А. Н., Калмыкова О. П., Егин Е. И., Пашенко Л. Л., Парфенова А. А.</i> ВОЗМОЖНОСТИ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ ОЧАГОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ	<i>Spindonov E. G., Akinchits A. N., Kalmykova O. P., Yegin E. I., Pashenko L. L., Parfenova A. A.</i> POSSIBILITIES OF COMPUTERIZED TOMOGRAPHY IN DIAGNOSTICS OF FOCAL LESIONS OF LIVER	81
<i>Сметанкин И. Г.</i> НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИМАНУАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ УДАЛЕНИЯ ХРУСТАЛИКА ПРИ ЕГО РЕФРАКЦИОННОЙ ЗАМЕНЕ	<i>Smetankin I. G.</i> SOME ASPECTS OF BIMANUAL METHOD OF LENS REMOVAL IN ITS REFRACTIVE REPLACEMENT	86
<i>Мандриков В. Б., Крайушкин А. И., Богданова Е. А., Царапкин Л. В.</i> МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ПОДРОСТКОВ КАЛМЫКИИ	<i>Mandrikov V. B., Krayushkin A. I., Bogdanova E. I., Tsarapkin L. V.</i> MORPHO-FUNCTIONAL PROFILE OF ADOLESCENTS IN KALMYKIA	88
<i>Ткаченко Л. В., Гушина М. Ю., Колесниченко О. А.</i> ВОССТАНОВЛЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ У ЖЕНЩИН МАЛОИНВАЗИВНЫМИ МЕТОДАМИ	<i>Tkachenko L. V., Gushina M. Yu., Kolesnichenko O. A.</i> RECOVERY OF WOMEN'S REPRODUCTIVE HEALTH WITH LOW INVASIVE METHODS	92
<i>Токарева Ю. М., Чижова В. М.</i> ПРИМЕНЕНИЕ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ	<i>Tokareva Yu. M., Chizhova V. M.</i> FACTOR ANALYSIS APPLICATION FOR EXAMINE MEDICAL CARE QUALITY	96