

УДК 616.002:535.03

Я. И. Серкиз, А. П. Хриенко, Э. З. Рябова, Е. Е. Чеботарев

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ МОЧИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЕЕ ПЕРЕКИСНОМ ОКИСЛЕНИИ

В последнее время появилась возможность пополнить арсенал существующих методов исследования мочи, используя эффекты перекисного окисления ее компонент. Исследователи много внимания уделяют изучению роли перекисного окисления биологически важных компонент живых систем при различных физиологических и патологических состояниях организма. Сверхслабые свечения, сопровождающие этот процесс, являются его достоверным и высокочувствительным количественным и качественным показателем [2, 4].

В литературе имеются сведения, что моча здоровых людей обладает слабым спонтанным свечением, уровень которого изменяется при воспалительных процессах, заболеваниях периферических сосудов, а также при лечении физическими факторами [1, 3]. Однако небольшая интенсивность свечения создает определенные трудности при использовании метода в клинических условиях.

Нами в предварительных опытах показано, что свечение мочи можно значительно усилить, используя перекисное окисление ее компонент перекисью водорода и тем самым увеличить информативность метода.

Задачей настоящего исследования явилась разработка метода измерения и анализа индуцированного H_2O_2 свечения мочи человека для установления пригодности его использования при оценке физиологического состояния организма.

Методика исследований

Для опытов использовали суточную мочу здоровых людей. Было обследовано 43 донора.

Сверхслабое свечение (ССС) индуцировали перекисью водорода. После добавления в кювету к моче H_2O_2 возникла быстрая вспышка свечения, затем медленный спад его. Причем затухание СССР в общем случае подчинялось экспоненциальной зависимости. Измерялись следующие параметры кинетики свечения: светосумма за 5 мин наблюдения от момента начала инициирования реакции (ΣI_5), интенсивность первой вспышки свечения (I_1) и коэффициент спада свечения (K_1), вычисленный из наклона полулогарифмической временной зависимости интенсивности свечения после начала инициирования. Кроме этого оценивали форму кинетики свечения.

ССС регистрировали на разработанной и сконструированной нами установке, работающей в квантометрическом режиме. Приемником квантов света служил фотоэлектронный умножитель ФЭУ-39А.

Результаты исследований и их обсуждение

В предварительных опытах нами показано, что моча животных и человека обладает слабым спонтанным свечением, интенсивность которого изменяется в зависимости от физиологического состояния организма и наличия патологии. Однако величина этих изменений не всегда достоверна и, следовательно, не может служить надежным тестом оценки состояния организма.

Использование в качестве инициатора свечения слабого раствора H_2O_2 привело к характерной кинетике свечения (рис. 1). В данном случае величина свечения более чем на порядок превышала спонтанную хемилюминесценцию, при этом неточность воспроизводимости результатов различных измерений одной и той же пробы мочи составляла не более 1—3%.

Нами было установлено, что изменение концентрации компонент окисляющей системы приводит к изменению формы кинетики свечения

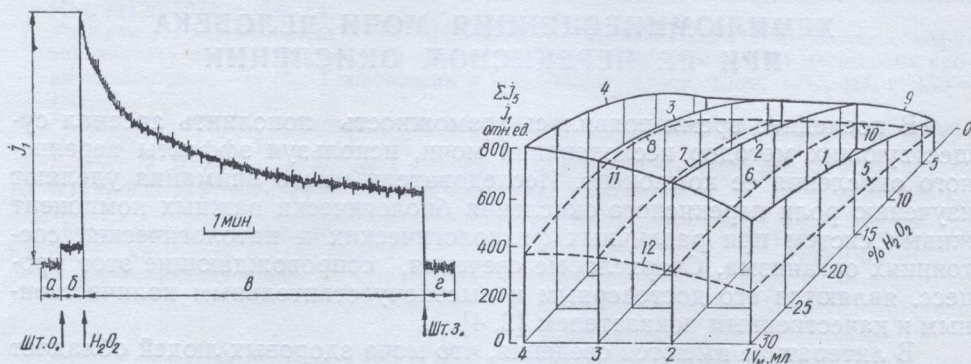


Рис. 1. Типичная кинетика сверхслабого свечения мочи человека индуцированного перекисью водорода.

а, з — фон установки; б — спонтанное свечение мочи; в — свечение мочи индуцированное H_2O_2 . Стрелками указано: Шт. о. — шторка фотоэлектронного умножителя открыта, H_2O_2 — добавление в измерительную кювету H_2O_2 , Шт. з. — шторка ФЭУ закрыта; I_1 — интенсивность вспышки свечения.

Рис. 2. Изменение параметров кинетики сверхслабого свечения системы: моча + 1 мл раствора H_2O_2 .

По горизонтали — объем мочи в измерительной кювете V_M , мл; по вертикали — светосумма реакции перекисного окисления мочи за 5 мин наблюдения, ΣI_5 , отн. ед.; интенсивность первой вспышки свечения, I_1 , отн. ед.; по оси аппликат — концентрация H_2O_2 в 1,0 мл раствора, $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$, %; 1, 2, 3, 4 — зависимости $\Sigma I_5 = f(C_{\text{H}_2\text{O}_2})$ соответственно для объемов мочи $V_M = 1, 2, 3, 4$ мл; 5, 6, 7, 8 — зависимости $I_1 = f(C_{\text{H}_2\text{O}_2})$ соответственно для объемов мочи $V_M = 1, 2, 3, 4$ мл; 9, 11 — зависимости $\Sigma I_5 = f(V_M)$ при $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = \text{const} = 3,0\%$ и $30,0\%$; 10, 12 — зависимости $I_1 = f(V_M)$, при $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = \text{const} = 3,0\%$ и $30,0\%$.

и соответственно его параметров. Для установления закономерностей этих изменений проведены исследования кинетики ССС при участии в процессе перекисного окисления различных объемов мочи и концентрации H_2O_2 .

На рис. 2 представлены зависимости общей светосуммы реакции ΣI_5 интенсивности первой вспышки свечения I_1 от объема мочи V_M и процентного содержания добавляемой в кювету H_2O_2 ($C_{\text{H}_2\text{O}_2}$). Из приве-

денных данных следует, что увеличение концентрации H_2O_2 в ячейке при постоянном объеме мочи ведет к росту I_1 и ΣI_5 (кривые 1—4 и 5—8). При небольших концентрациях H_2O_2 ($C_{\text{H}_2\text{O}_2} < 5,0\%$ для данной ячейки)

ΣI_5 и I_1 для $V_M > 2$ мл имеют линейные зависимости и почти не зависят от объема (кривые 9 и 10). С увеличением концентрации H_2O_2 ($C_{\text{H}_2\text{O}_2} \geq 30,0\%$) плато наступает при объемах $V_M > 4$ мл (кривые 11 и 12). Эти данные получены при постоянном объеме добавляемого в кювету раствора H_2O_2 $V_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1,0$ мл. Увеличение $V_{\text{H}_2\text{O}_2}$ (рис. 3) приводит к смещению начала линейной зависимости I_1 , $\Sigma I_5 = f(C_{\text{H}_2\text{O}_2})$, где $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$ — концентрация H_2O_2 , в сторону увеличения $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$ (кривые 1 и 2) и появле-

нию нелинейного участка кривой, на котором отмечено значительное увеличение градиента коэффициента скорости спада свечения K_1 (кривая 3).

Таким образом, из анализа приведенных данных с точки зрения выбора оптимальной ячейки, следует использовать такую $C_{H_2O_2}$, где зависимость $I_1, \Sigma I_5 = f(V_M)$ непостоянна и имеет возможно большие изме-

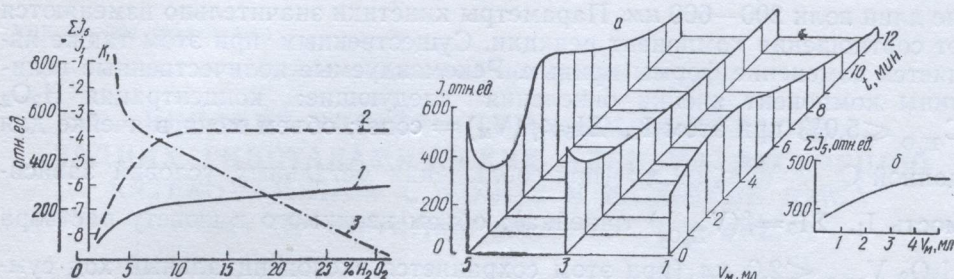


Рис. 3. Изменение параметров кинетики сверхслабого свечения системы: 1,0 мл мочи + 2,0 мл раствора H_2O_2 .

По горизонтали — концентрация H_2O_2 в 2,0 мл раствора, %; по вертикали — светосумма реакции за 5 мин наблюдения, ΣI_5 , отн. ед.; интенсивность первой вспышки свечения I_1 , отн. ед.; коэффициент скорости спада свечения после первой вспышки, K_1 ; 1 — ΣI_5 ; 2 — I_1 ; 3 — K_1 .

Рис. 4. Изменение параметров кинетики свечения системы: моча + 4,0 мл 3,0% раствора H_2O_2 .

а — изменение формы кинетики; по горизонтали объем мочи в кювете, V_M , мл; по вертикали — интенсивность свечения I , отн. ед.; по оси аппликат — время реакции, t , мин; б — изменение светосуммы реакции; по горизонтали — объем мочи в кювете, V_M , мл; по вертикали — светосумма реакции ΣI_5 , отн. ед.:

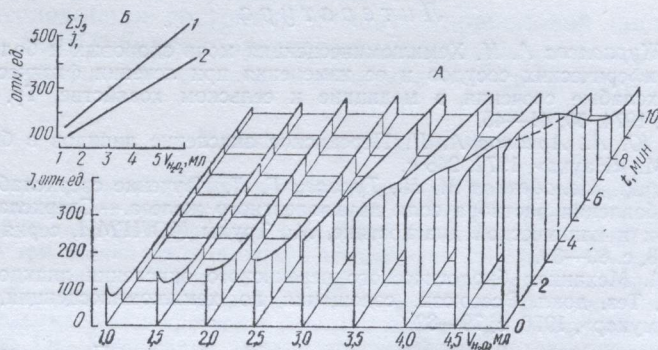


Рис. 5. Изменение параметров кинетики свечения системы: 1,0 мл мочи + раствор 3,0% H_2O_2 .

А — изменение формы кинетики; по горизонтали — объем раствора 3,0% H_2O_2 , $V_{H_2O_2}$, мл; по вертикали — интенсивность свечения, I , отн. ед.; по оси аппликат — время реакции, t , мин. Б — изменение параметров кинетики; по горизонтали — объем раствора 3,0% H_2O_2 , $V_{H_2O_2}$, мл; по вертикали — светосумма реакции за 5 мин наблюдения, ΣI_5 , отн. ед.; интенсивность первой вспышки свечения, I_1 , отн. ед.; 1 — I_1 , 2 — ΣI_5 .

нения при небольших изменениях V_M . Такому требованию для небольших V_M отвечает $C_{H_2O_2} < 5,0\%$ (рис. 2). Нами в дальнейших измерениях принята $C_{H_2O_2} = 3,0\%$.

Из рис. 4, а следует, что изменение V_M при постоянном количестве добавляемого к моче 3,0% раствора H_2O_2 может привести к качественному изменению формы кривой при соблюдении равенства некоторых параметров кинетики. Например, зависимость $\Sigma I_5 = f(V_M)$ нелинейна и имеет плато (рис. 4, б).

Количество добавляемого в ячейку раствора 3,0% H_2O_2 при постоянном объеме мочи также может значительно изменить форму кривой кинетики свечения (рис. 5, А). Однако зависимости I_1 , $\Sigma I_5 = f(V_{\text{H}_2\text{O}_2})$ в этом случае линейны (рис. 5, Б).

Проведенные исследования показали, что реакция перекисного окисления мочи сопровождается характерной кинетикой свечения в диапазоне длин волн 200—600 нм. Параметры кинетики значительно изменяются от соотношения компонент реакции. Существенным при этом также является изменение формы кривых. Рекомендуемые количественные величины компонент ячейки окисления следующие: концентрация H_2O_2 $C_{\text{H}_2\text{O}_2} \leq 5,0\%$ при этом I_1 , $\Sigma I_5 \neq f(V_M) = \text{const}$; объем мочи в ячейке для данной $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$ $V_M \leq 2,0$ мл (при соблюдении остальных условий зависимость I_1 , $\Sigma I_5 = f(V_{\text{H}_2\text{O}_2})$ линейна); объем вводимого в кювету раствора H_2O_2 $V_{\text{H}_2\text{O}_2} < 2,0$ мл (при этом сохраняется экспоненциальный ход суммарной реакции перекисного окисления).

Оптимальное соотношение объемов мочи к 3% раствору H_2O_2 равно 1:2. Изменение соотношений приводит к снижению чувствительности метода.

Таким образом, высокая чувствительность метода, возможность одновременного анализа нескольких параметров свечения, позволяют использовать его для исследования ССС мочи человека при различных физиологических и патологических состояниях.

Литература

1. Асанов М., Журавлева А. И. Хемилюминесценция мочи здоровых и больных заболеваниями периферических сосудов и ее изменения при лечении физическими факторами.— Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве, Тр. МОИП, М., Изд-во МГУ, 1974, 50, 41—45.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., «Наука», 1972. 248 с.
3. Клименко П. Д., Молоденков М. Н., Туровец Г. Л. Изучение сверхслабого свечения мочи при добавлении раствора соли двухвалентного железа.— Сверхслабое свечение плазмы крови в клинической диагностике, М., Труды МОЛГМИ, серия «Хирургия», 1974, 9, вып. 8, с. 80—89.
4. Нейфах Е. А. Механизм биологического перекисного окисления липидов.— Хемилюминесценция, Тез. докл. Всесоюз. совещания по хемилюминесценции. Запорожье, Изд-во «Коммунар», 1976, с. 79—82.

Отдел радиобиологии
Института проблем онкологии

Поступила в редакцию
22.III 1977 г.

Ja. I. Serkiz, A. P. Khrienko, E. Z. Rjabova, E. E. Chebotarev

CHEMILUMINESCENCE OF HUMAN URINE WITH ITS PEROXIDE OXIDATION

Summary

The peroxide oxidation of human urine is accompanied by peculiar hemiluminescence kinetics within the range of 200-600nm. Luminescence was induced by H_2O_2 . The kinetic parameters vary considerably depending on the ratio of the reaction components. The developed cell of oxidation is the result of the studies conducted. The recommended optimal ratio of the volumes of urine cell of oxidation component to 3% solution of H_2O_2 is 1:2. Changes in the ratio result in the lowering of the method sensitivity. A high resolving ability of the method permits its applying for studies of superweak luminescence of human urine under effect of different physiological and pathological states.