

УДК 519.23:550.47:616.6
DOI 10.19110/1994-5655-2019-4-37-44

О.Е. АМОСОВА, С.Н. ШАНИНА, В.М. КАТКОВА

**СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА УРОЛИТОВ
ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КОМИ**

*Институт геологии им. акад. Н.П. Юшкина
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН,
г. Сыктывкар*

*kramosova@geo.komisc.ru;
shanina@geo.komisc.ru; katkova@geo.komisc.ru*

O.YE. AMOSOVA, S.N. SHANINA, V.I. KATKOVA

**STATISTICAL ANALYSIS OF AMINO ACID
COMPOSITION OF UROLITHS
IN RESIDENTS OF THE KOMI REPUBLIC**

*N.P.Yushkin Institute of Geology,
Federal Research Centre Komi Science Centre,
Ural Branch, RAS,
Syktyvkar*

Аннотация

Для получения новой дополнительной информации о генезисе патогенных биоминералов – уролитов – использовались методы статистического анализа. Проведено изучение аминокислотного состава 28 образцов уролитов, различающихся по химическому типу (уратные, оксалатные и фосфатные). Одномерными статистическими методами выявлены статистически значимые различия по содержаниям Gly, Glu, Asp, Lys для разных типов уролитов при их парном сравнении. Однако показано, что ни одна аминокислота не различает попарно все три типа мочевых камней. Примененные многомерные методы классификации (дискриминантный анализ и деревья классификации) наглядно (графически) продемонстрировали различия разных типов уролитов по аминокислотному составу.

Ключевые слова:

критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллеса, непарный критерий Стьюдента, деревья классификации, дискриминантный анализ, уролиты, аминокислоты

Abstract

The purpose of the paper was to identify, by statistical analysis, differences in the amino acid composition of uroliths in residents of the Komi Republic. One-dimensional (Kruskel-Wallis and Mann-Whitney criteria, unpaired Student's t-test) and multidimensional (discriminant analysis, classification trees) methods of statistical analysis were used. The amino acid composition of 28 samples of uroliths differing in chemical types (urate, oxalate and phosphate) was studied. One-dimensional statistical methods revealed statistically significant differences in the contents of Gly, Glu, Asp, and Lys for various types of uroliths in their paired comparison. It was found that phosphates and oxalates are statistically significantly different from urates by relative contents of Gly and Glu, but do not differ from each other. Only urates and phosphates have statistically significant differences in Asp content. By the content of Lys, only phosphates and oxalates differ statistically significantly, but other pairs of urinary stones do not differ. It should be noted that none of the amino acids distinguish between pairs of all three types of urinary stones. The applied multidimensional classification methods (discriminant analysis and classification trees) made it possible to graphically demonstrate the differences between different types of uroliths by amino acid composition. Statistical analysis of the amino acid composition of uroliths (oxalate, phosphate and urate) revealed distinctions in their protein component and its relationship with the basic mineral components (whewellite and weddellite, struvite and apatite, uric acid). The obtained results confirm the important role of proteins in the processes of formation and growth of urinary stones.

Keywords:

Kruskel-Wallis criterion, Mann-Whitney criterion, unpaired Student's t-test, classification trees, discriminant analysis, uroliths, amino-acids

Введение

Уролиты (мочевые камни) представляют собой патогенные органо-минеральные образования, встречающиеся в мочевыводящих путях и развивающиеся вследствие мочекаменной болезни. По химическому составу они обычно разделяются на уратные, оксалатные и фосфатные. Мочевые камни мономинерального состава встречаются редко, чаще они имеют смешанный состав, а их принадлежность к тому или иному типу устанавливается по преобладанию минеральной фазы [1].

За последнее десятилетие заболеваемость уролитиазом (мочекаменной болезнью) в Республике Коми неуклонно растет и значительно превышает общероссийские показатели. По данным Госкомстата и Минздрава России, показатель заболеваемости по Республике Коми составил 8,52 случая на 1000 чел., а в целом по Российской Федерации 5,98 случаев на 1000 чел. [2]. При исследовании 90 моче- вых камней, полученных от жителей Республики Коми, установлено, что на долю оксалатных уролитов приходится 67 %, фосфатных – 22 % и уратных – 11 %. В настоящее время отсутствует единая точка зрения на природу уролитиаза [3], при этом понимание данного сложного механизма приведет к разработке новой стратегии профилактики и лечения этого заболевания. Исследования последних лет показали, что немалую роль в процессах формирования и роста моче- вых камней играет органическое вещество [4, 5]. Непосредственно в уролитах содержание органической компоненты составляет 2–5 мас. %, причем основная ее масса приходится на долю белков, локализация которых в структуре патогенного биоминерального образования крайне неоднородна [5, 6]. В литературе имеются лишь единичные данные о составе аминокислот (АК) белковых соединений уролитов различного типа [7–10]. Предпринимались отдельные попытки обнаружения связи между минеральной составляющей моче- вых камней и качественным и количественным составом АК и белков [8, 9, 11–13]. Однако в целом эти исследования не позволяют однозначно утверждать о существовании взаимосвязи между аминокислотным составом уролитов и их химическим составом. Более того, исследования аминокислотного состава различных биоминералов в организме человека показали, что они формируются в условиях повышенного содержания одного и того же набора аминокислот, выполняющих роль структурообразующих компонентов в генезисе патогенных твердых образований [8]. Владея методологией различных научных направлений, возможно обеспечить прогресс в решении вопросов роста заболеваемости уролитиазом.

В задачи работы входило установление аминокислот, показывающих статистически значимые отличия уролитов разных типов, и выявление статистически значимых различий между априорно заданными типами моче- вых камней по нескольким наиболее информативным АК одновременно.

Материал и методы

Нами проведено изучение аминокислотного состава 28 образцов уролитов, из которых 8 – ураты (моче- кислые), состоящие из моче- вой кислоты ($C_5H_4N_4O_3$), 8 – оксалатсодержащие (узеллит – $CaC_2O_4 \cdot H_2O$, уэдделлит – $CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$) и 12 – фосфатные (струвит – $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$, карбонатсодержащий гидроксилпатит с идеальной формулой $Ca_{10}(PO_4CO_3)_6(OH)_2$). Определялся состав 14 аминокислот: аланин (Ala), валин (Val), глицин (Gly), изолейцин (Ile), лейцин (Leu), лизин (Lys), аспарагиновая кислота (Asp), глутаминовая кислота (Glu), треонин (Thr), серин (Ser), фенилаланин (Phe), тирозин (Tyr), пролин (Pro) и метионин (Met). Идентификация и определение содержания аминокислот в образцах выполнены на газовом хроматографе GC-17A (Shimadzu, капиллярная колонка Chirasil-L-Val). Для извлечения аминокислот из образцов применяли кислотный гидролиз в 6М HCl при 105°C в течение 12 час. Выделенные из гидролизата аминокислоты очищали от примесей и переводили в N-пентафторпропионовые изопропиловые эфиры соответствующих аминокислот. Подробно методика определения аминокислотного состава описана в работе [14].

Следует отметить, что общее содержание АК для каждого типа уролитов варьирует в одних и тех же пределах (11–33 мг/г в уратных, 11–29 мг/г в фосфатных и 13–34 мг/г в оксалатных), что, по-видимому, связано с различным содержанием в них белковой компоненты. Как показали проведенные исследования, состав индивидуальных аминокислот в них довольно схож и не позволяет наглядно различать отдельные типы моче- вых камней.

Для выявления взаимосвязи минеральной фазы с аминокислотным составом нами были привлечены статистические методы исследования с использованием программного продукта Statistica 6.0. Применялись одномерные (критерии Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни и непарный критерий Стьюдента) и многомерные методы (дерево классификации и дискриминантный анализ). Статистическая оценка проводилась для заданного критического уровня значимости $p=0,05$. Ранее подобные исследования были выполнены нами для сравнительного группирования углеродистых веществ по аминокислотному составу [15]. Статистический анализ данных проводился по относительным процентным содержаниям АК в виду вышеописанного неравномерного распределения белковой компоненты в уролитах.

Результаты и обсуждение

Сначала проведена проверка распределений содержаний аминокислот на нормальность для каждого типа уролитов с помощью описательной статистики, графически и с применением статистических критериев. Для этого использовались критерии Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса (статистика d) и Шапиро-Уилка (статистика W), оце-

нивались коэффициенты асимметрии А и эксцесса Е (абсолютные значения не превосходят единицы), нормальные вероятностные графики, частотные гистограммы распределения с кривой нормального распределения. В результате проведенных исследований установлено, что для уролитов, состоящих из мочевой кислоты, близкое к нормальному имеют распределения Val (W = 0,903; p = 0,306; d = 0,201; p > 0,20; A = 0,67; E = -0,37), Ser (W = 0,954; p = 0,751; d = 0,128; p > 0,20; A = -0,81; E = 0,65), Phe (W = 0,970; p = 0,901; d = 0,149; p > 0,20; A = -0,69; E = 0,38), Tyr (W = 0,981; p = 0,965; d = 0,150; p > 0,20; A = -0,09; E = -0,65), для фосфатных – Ala (W = 0,986; p = 0,998; d = 0,101; p > 0,20; A = 0,22; E = 0,22), Val (W = 0,940; p = 0,503; d = 0,160; p > 0,20; A = 0,19; E = -0,21), Ile (W = 0,960; p = 0,791; d = 0,128; p > 0,20; A = 0,01; E = -0,25), Leu (W = 0,959; p = 0,767; d = 0,170; p > 0,20; A = -0,40; E = -0,57), Glu (W = 0,875; p = 0,075; d = 0,177; p > 0,20; A = 0,74; E = 0,21), Lys (W = 0,988; p = 0,999; d = 0,087; p > 0,20; A = 0,12; E = -0,66), для оксалатных – Leu (W = 0,980; p = 0,961; d = 0,151; p > 0,20; A = -0,19; E = 0,50), Asp (W = 0,958; p = 0,792; d = 0,148; p > 0,20; A = 0,59; E = -0,02), Glu (W = 0,918; p = 0,410; d = 0,259; p < 0,15; A = 0,83; E = 0,002), Lys (W = 0,947; p = 0,683; d = 0,151; p > 0,20; A = -0,10; E = -0,46). При более строгом условии для коэффициентов асимметрии и эксцесса (абсолютное значение не более 0,5) число аминокислот, имеющих нормальное распределение, для разных типов будет меньше или вообще сведётся к нулю, например для мочекислых.

Поскольку ни одна из рассмотренных аминокислот не имеет нормального распределения одно-

временно для всех трех типов уролитов, для проверки наличия или отсутствия различия по ним мочевиных камней разных типов использовался непараметрический статистический критерий Краскела-Уоллиса. Установлено, что мочевые камни статистически значимо различаются по Gly (H = 15,086; p = 0,0005), Ile (H = 6,542; p = 0,038), Asp (H = 6,993; p = 0,030), Glu (H = 15,572; p = 0,0004), Lys (H = 6,469; p = 0,039). Так как критерий Краскела-Уоллиса показывает только наличие или отсутствие различия между несколькими независимыми группами объектов, но не показывает, какие именно группы объектов различаются, далее был применен критерий Манна-Уитни (непараметрический статистический метод сравнения двух независимых групп объектов по одному признаку). При сравнении двух типов уролитов по АК, имеющим распределения близкие к нормальному для обоих типов, был использован параметрический непарный критерий Стьюдента. Для попарного сравнения трёх независимых групп образцов – мочекислых, фосфатных, оксалатных – использовался скорректированный критический уровень значимости, равный 0,017. Применение прежнего уровня значимости 0,05 при попарном сравнении трёх типов образцов будет неправильно [16]. Установлено, что по относительным содержаниям Gly и Glu фосфатные и оксалатные образования статистически значимо отличаются от уратных (мочекислых), но не различаются между собой (табл. 1). Уратные характеризуются высоким относительным содержанием Gly (от 8,9 до 36,0 %) и низким относительным содержанием Glu (от 8,9 до 12,3 %) по сравнению с оксалатными (Gly – 4,2-7,6 %, Glu – 12,0-20,9 %) и фосфатными (Gly – 5,3-13,1 %, Glu –

Таблица 1

Результаты расчётов критерия Манна-Уитни и медианных значений относительных содержаний аминокислот в уролитах

Table 1

Results of calculations of Mann-Whitney test and median values of relative contents of amino acids in uroliths

Аминокислота	Медианные значения относительных содержаний аминокислот в уролитах			Сравниваемые типы уролитов								
				Уратные (n ₁ =8) и фосфатные (n ₂ =12)			Уратные (n ₁ =8) и оксалатные (n ₂ =8)			Фосфатные (n ₁ =12) и оксалатные (n ₂ =8)		
	Уратные	Фосфатные	Оксалатные	U	Z	p	U	Z	P	U	Z	p
Ala	5,716	7,974	10,366	27,0	-1,620	0,105	17,0	-1,575	0,115	45,0	-0,231	0,817
Gly	17,872	6,862	5,619	10,0	2,932	0,003	0,0	3,361	0,0008	24,0	1,852	0,064
Val	5,135	5,725	4,642	29,0	-1,466	0,143	27,0	0,525	0,600	38,0	0,772	0,440
Ile	2,947	4,109	2,772	23,0	-1,929	0,054	32,0	0,0	1,0	18,0	2,315	0,021
Leu	9,123	11,059	9,040	23,0	-1,929	0,054	29,0	-0,315	0,753	24,0	1,852	0,064
Thr	5,686	5,308	5,251	42,0	0,463	0,643	27,0	0,525	0,600	46,0	-0,154	0,877
Ser	7,002	6,040	5,435	35,0	1,003	0,316	13,0	1,995	0,046	26,0	1,697	0,090
Asp	9,073	12,229	13,538	14,0	-2,623	0,009	14,0	-1,890	0,059	45,0	-0,231	0,817
Glu	11,259	15,958	15,162	2,0	-3,549	0,0004	1,0	-3,256	0,001	39,0	0,694	0,487
Pro	6,009	5,158	7,394	28,0	1,543	0,123	22,0	-1,050	0,294	22,0	-2,006	0,045
Phe	4,993	6,145	4,905	22,0	-2,006	0,045	32,0	0,0	1,0	22,0	2,006	0,045
Tyr	5,897	4,189	1,541	29,0	1,466	0,143	14,5	1,838	0,066	30,0	1,389	0,165
Lys	6,341	8,011	5,465	31,0	-1,312	0,190	17,0	1,575	0,115	18,0	2,315	0,021
Met	0,202	0,0	0,269	38,0	0,772	0,440	31,0	0,105	0,916	33,0	-1,157	0,247

Примечание. n₁, n₂ – количества образцов уролитов соответствующего типа, U – значение критерия Манна-Уитни, p – достигнутый уровень значимости.

Note. n₁, n₂ – number of samples of uroliths of each type, U – value of the Mann-Whitney test, p – achieved level of significance.

12,2–22,6%). По содержанию Asp статистически значимо различаются только уратные и фосфатные. Мочекислые уролиты имеют более низкие относительные содержания Asp (5,4–14,6 %), чем фосфатные (9,6–22,4 %). По содержанию Lys статистически значимо различаются только фосфатные и оксалатные конкременты ($t = 2,946$, $df = 16,482$, $p = 0,009$), но не остальные пары мочевых камней (таблицы 1, 2). Для фосфатных образований характерны более высокие относительные содержания Lys (3,4–13,2 %) по сравнению с образцами, состоящими из оксалата кальция (3,3–7,3 %). Относительные содержания Lys в уратных образцах варьируют от 5,1 до 9,3 %. Следует отметить, что ни одна аминокислота не различает попарно все три типа мочевых камней (для уровня значимости 0,017).

риц ковариаций) выполнены, то правильнее использовать дискриминантный анализ. Метод дерева классификации показал 100 %-ную правильную классификацию всех 28 образцов мочевых камней для всех типов ветвления, реализованных в программе Statistica 6.0 (дискриминантное одномерное ветвление для категориальных и порядковых предикторов, полный перебор для одномерных ветвлений по методу C&RT, дискриминантное ветвление по линейным комбинациям порядковых предикторов), с условием прекращения ветвлений – прямая остановка и априорными вероятностями (0,67 – оксалатные, 0,22 – фосфатные, 0,11 – уратные), заданными с учетом исходных частот встречаемости разных типов уролитов у жителей Республики Коми. Так, дерево классификации, полученное дис-

Таблица 2

Результаты расчётов непарного критерия Стьюдента и критерия Левена проверки равенства дисперсий

Table 2

Results of calculations of unpaired Student's t-test and Levene's test for equality of variances

Аминокислота	\bar{X}_1	\bar{X}_2	s_1	s_2	Левена F(1,df)	df	p Левена	t	df	p двуст.
Группа 1: уратные ($n_1=8$), группа 2: фосфатные ($n_2=12$)										
Val	5,15	5,75	0,44	1,32	3,54	18	0,076	-1,215 -1,437	18 14,46	0,240 0,172
Группа 1: фосфатные ($n_1=12$), группа 2: оксалатные ($n_2=8$)										
Leu	10,55	9,22	1,58	1,40	0,62	18	0,440	1,938 1,988	18 16,42	0,069 0,064
Glu	16,33	15,77	3,43	2,92	0,07	18	0,795	0,380 0,393	18 16,77	0,708 0,699
Lys	8,07	5,21	2,93	1,35	5,18	18	0,035	2,568 2,946	18 16,48	0,019 0,009

Примечание. \bar{X}_1 – среднее группы 1, \bar{X}_2 – среднее группы 2, s_1 – стандартное отклонение группы 1, s_2 – стандартное отклонение группы 2, F – значение критерия Левена, t – значение критерия Стьюдента, df – число степеней свободы, p – достигнутый уровень значимости. В первой строке для каждой из перечисленных аминокислот представлены результаты расчёта критерия Стьюдента (t, df, p), вычисленные при условии принятия гипотезы о равенстве дисперсий. Во второй строке – результаты расчёта критерия Стьюдента (t, df, p), вычисленные при условии отклонения гипотезы о равенстве дисперсий. Жирным шрифтом выделены значения, которые нужно использовать для интерпретации результатов.

Note. \bar{X}_1 – group average 1, \bar{X}_2 – group average 2, s_1 – standard deviation of group 1, s_2 – standard deviation of group 2, F – value of Levene's test, t – value of Student's test, df – number of degrees of freedom, p – achieved level of significance. The first line for each of these amino acids presents the results of the Student's test calculation (t, df, p), calculated under the assumption of the hypothesis of equality of variances. The second line presents the results of the Student's test calculation (t, df, p), calculated under the condition of non-acceptance of the hypothesis of equality of variances. Bold indicates the values to be used to interpret the results.

Наряду с одномерными статистическими методами оценки различия уролитов разных типов использовались и многомерные методы – деревья классификации [17, 18] и дискриминантный анализ [19]. Эти методы позволяют предсказывать принадлежность уролитов к определенному заранее известному типу в зависимости от соответствующих значений относительных содержаний аминокислот. Использование деревьев классификации для анализа имеющихся данных обусловлено невыполнением одного из исходных требований применения дискриминантного анализа – нормальности распределений содержаний аминокислот для каждого типа образцов мочевых камней. Если же все теоретические допущения (многомерная нормальность распределения для каждого типа, равенство мат-

риминантным одномерным ветвлением для категориальных и порядковых предикторов, имеет большой размер – девять ветвлений, 10 терминальных вершин (ветвления осуществляются по Gly, Тур, Ala, Met, Pro, Ile, Asp), вследствие чего его сложно интерпретировать. Дерево классификации, полученное полным перебором для одномерных ветвлений по методу C&RT (рис. 1), на половину меньше предыдущего – пять ветвлений, шесть терминальных вершин (ветвления осуществляются по Ile, Gly, Val, Lys, Glu). Самое простое и короткое дерево классификации получено дискриминантным ветвлением по линейным комбинациям порядковых предикторов (содержаний 14 аминокислот) (рис. 2).

Для оценки деревьев классификации и их способности к прогнозированию использовалась гло-

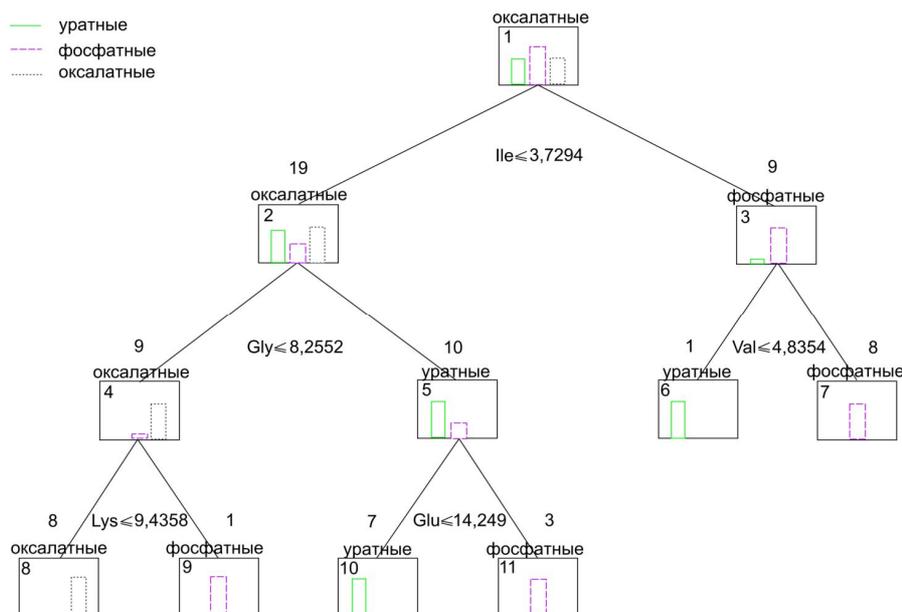


Рис. 1. Граф дерева классификации образцов мочевых камней по составу 14 аминокислот (тип ветвления – полный перебор для одномерных ветвлений по методу C&RT, условие останковки – прямая останковка, априорные вероятности – 0,67 оксалатные, 0,22 фосфатные, 0,11 уратные).
 Fig. 1. Graph of classification tree of uroliths samples by composition of 14 amino acids (split selection method – C&RT-style exhaustive search for univariate splits, stopping rule – FACT-style direct stopping, a priori probabilities – 0,67 oxalate, 0,22 phosphate, 0,11 urate).

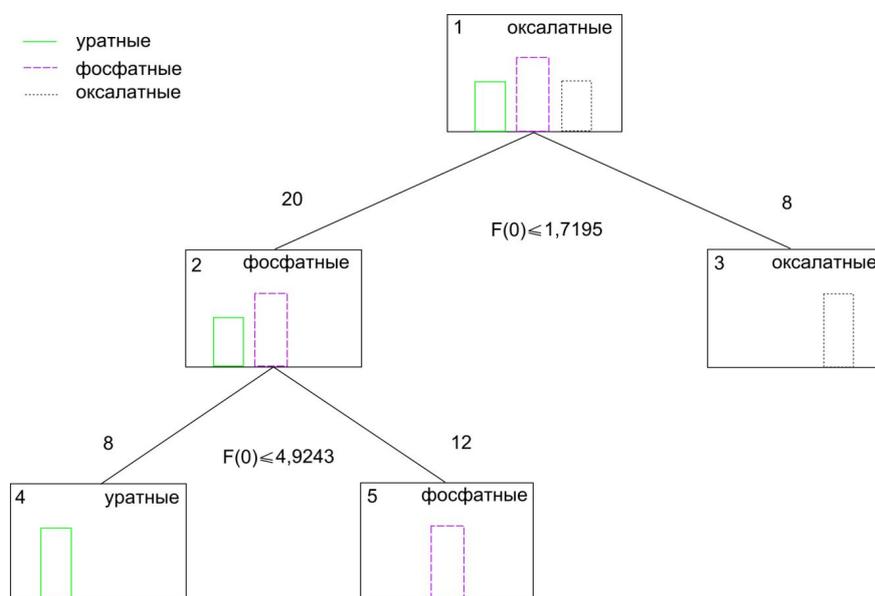


Рис. 2. Граф дерева классификации образцов мочевых камней по составу 14 аминокислот (тип ветвления – дискриминантное ветвление по линейным комбинациям порядковых предикторов (содержаний всех 14 аминокислот), условие останковки – прямая останковка, априорные вероятности – 0,67 оксалатные, 0,22 фосфатные, 0,11 уратные).
 Fig. 2. Graph of classification tree of uroliths samples by composition of 14 amino acids (split selection method – discriminant-based linear combination split for ordinal predictors (contents of all 14 amino acids), stopping rule – FACT-style direct stopping, a priori probabilities – 0,67 oxalate, 0,22 phosphate, 0,11 urate).

бальная кросс-проверка [18]. Для полученных трёх деревьев классификации, дающих 100%-ную верную классификацию для 28 образцов уролитов, глобальная кросс-проверка показала наличие ошибок классификации. Наилучший результат (наименьшее число ошибок классификации, наименьшая цена кросс-проверки) получен для дерева классификации, построенного по линейным комбинациям предикторов (содержаний аминокислот), цена глобальной кросс-проверки составила 0,185 (средняя доля ошибочно классифицированных образцов – 18,5%). Полученное дерево классификации (рис. 2) имеет два ветвления и три терминальные вершины. Первое ветвление по линейной комбинации в корневой вершине отделяет оксалатные от двух других типов и относит их к терминальной вершине 3. Остальные образцы (уратные и фосфатные) отнесены к вершине 2 (решающей вершине). Второе ветвление (уже по другой линейной комбинации) отделяет уратные от фосфатных. Дерево классификации правильно классифицировало все образцы: каждая из терминальных вершин не содержит неправильно классифицированных образцов.

Для сравнения был применен линейный дискриминантный анализ. Результаты, полученные методом дерева классификации с типом ветвления по линейным комбинациям порядковых предикторов и дискриминантным анализом, схожи. С помощью дискриминантного анализа установлено, что все три типа уролитов различаются по АК составу статистически значимо (статистика Лямбда Уилкса 0,005 при уровне значимости $p = 1,37E-09$). Для выявления информативных аминокислот, вносящих наиболее значимый вклад в различение образцов мочевых камней разных

типов, был проведен дискриминантный анализ двумя методами: пошаговый с включением, пошаговый с исключением [19]. Методом пошаговый с включением была получена 100%-ная правильная классификация образцов уролитов и выявлены десять наиболее информативных аминокислот – Gly, Tyr, Lys, Leu, Ile, Ser, Thr, Phe, Glu, Pro. По их содержанию совокупности образцов уролитов разных типов различаются статистически значимо (статистика лямбда Уилкса 0,008 при уровне значимости $p = 1,8E-12$). Апостериорные вероятности принадлежности мочевых камней к своему типу (с априорными вероятностями, взятыми согласно исходным частотам встречаемости образцов) высоки – от 0,9996 до 1,0. Заметим, что три (Gly, Lys, Glu) из десяти информативных аминокислот – это аминокислоты, которые статистически значимо ($p < 0,017$) различают пары типов уролитов, согласно непараметрическому критерию Манна-Уитни и параметрическому непарному критерию Стьюдента. Также следует отметить, что семь (Tyr, Lys, Leu, Ile, Ser, Phe, Glu) из этих десяти информативных аминокислот имеют распределения, близкие к нормальному для некоторых типов уролитов. По этим 10 информативным аминокислотам были вычислены две канонические дискриминантные функции (число типов минус один). Первая дискриминантная функция включает в себе 71,7 % общих дискриминантных возможностей и очень хорошо различает оксалатные от двух других типов мочевых камней, но плохо различает уратные и фосфатные. Наибольший вклад в значение первой дискриминантной функции вносят Gly, Leu, Ile, Ser, Thr. Вторая дискриминантная функция включает в себе 28,3 % дискриминантных возможностей и очень хорошо различает фосфатные и уратные образцы. Наибольший вклад в значение второй дискриминантной функции вносят Tyr и Phe. На рис. 3 видно, что все три типа уро-

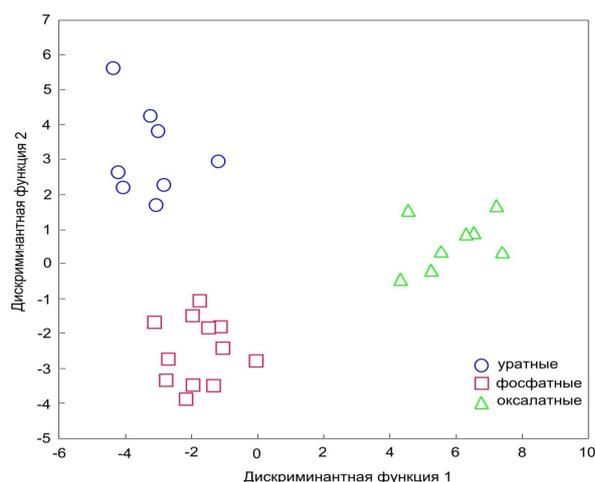


Рис. 3. Расположение образцов уролитов на плоскости, заданной первой и второй дискриминантными функциями (вычисленными по 10 информативным аминокислотам, полученным методом пошаговый с включением).

Fig. 3. Location of uroliths samples on the plane defined by the first and second discriminant functions (calculated from 10 informative amino acids by the stepwise with inclusion method).

литов четко разделяются. Исходя из значений статистических характеристик (см. таблицы 3, 4) в совокупности обе дискриминантные функции статистически значимо различают изученные три типа образцов.

Отметим, что оба метода разделили все образцы верно, используя только две линейные функции, причем первая функция для обоих методов отделяет оксалатные от двух других типов уролитов, а вторая разделяет фосфатные и уратные. Эти методы, хотя и дают схожие результаты, но не являются функционально эквивалентными.

Таблица 3

Показатели значимости дискриминантных функций (ДФ)

Table 3

Indicators of significance of discriminant functions (DF)

ДФ	Собственное значение	Относительное процентное содержание	Каноническая корреляция
1	16,107	71,7	0,97
2	6,359	28,3	0,93

Таблица 4

Результаты проверки статистической значимости остаточной дискриминантной способности системы

Table 4

Results of verification of statistical significance of residual discriminant capacity of the system

к	Лямбда Уилкса	Хи-квадрат	Степени свободы	р-уровень
0	0,008	99,127	20	1,80E-12
1	0,136	40,918	9	5,18E-06

Примечание. к – количество последовательно исключённых дискриминантных функций, начиная с первой.

Note. k – number of subsequently excluded discriminant functions, starting with the first.

Заключение

Проведенный статистический анализ позволил выявить отличия в аминокислотном составе трех изученных типов уролитов жителей Республики Коми. Установлены индивидуальные аминокислоты, по которым различные типы мочевых камней различаются статистически значимо. С помощью критерия Манна-Уитни выявлено, что уратные уролиты (мочевая кислота) по относительному содержанию глицина и глутаминовой кислоты статистически значимо отличаются от оксалатных (узеллит, уэдделлит) и фосфатных (струвит, апатит), а фосфатные отличаются от мочекислых по содержанию аспарагиновой кислоты. С помощью критерия Стьюдента установлено, что фосфатные и оксалатные конкременты статистически значимо отличаются по относительному содержанию лизина. Одномерными статистическими методами показано, что ни одна аминокислота не различает попарно все три типа мочевых камней.

Многомерные методы (деревья классификации, дискриминантный анализ) показали наличие взаимосвязи между минеральной составляющей уролитов и составом входящих в них аминокислот. Полученные две линейные функции для обоих методов классификации (деревья классификации, дискриминантный анализ) четко различают все три типа уролитов.

Таким образом, проведенный статистический анализ показал существование взаимосвязи аминокислотного состава уролитов с их минеральной фазой. Это, в свою очередь, позволяет уверенно говорить о ведущей роли белковых веществ в процессе формирования уролитов в организме человека и их непосредственном влиянии на состав минеральных компонентов.

Литература

1. Каткова В.И. Мочевые камни. Сыктывкар, 1996. 87 с.
2. Заболеваемость всего населения России в 2016 г. Статистические материалы. Часть II. М., 2017. 142 с.
3. Вошчула В.И. Мочекаменная болезнь. Этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика. Минск: ВЭВЭР, 2006. 268 с.
4. *Proteins in renal stones and urine of stone formers* / A.A.Siddiqui, N.P.Buchholz, T.Sultana, M.A.Waqar, J.Talati // *Urological Research*. 1998. Vol. 26. P. 383–388.
5. Stock A., Yadav K.K., Gupta M. Analysis of Methods for Extracting Matrix Proteins from Human Kidney Stones // *Urology & Nephrology Open Access Journal*. 2017. Vol. 4. Issue 1. DOI: 10.15406/unoaj.2017.04.00111
6. Пятанова П.А., Голованова О.А., Россева Е.В. Анализ белковых соединений уролитов // Минералогия техногенеза: Материалы совещания. Миасс, 2003. С. 132–142.
7. Basavaraj D.R., Biyani C.S. The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of calcium containing renal stones // *EAU - EBU*. 2007. S. 5. P. 126–136. doi:10.1016/j.eeus.2007.03.002
8. Каткова В.И., Шанина С.Н., Боровкова Е.В. Аминокислоты: структурообразующие компоненты биоминералов и маркеры процессов биосинтеза // *ЗРМО*. 2008. № 5. С. 80–85.
9. Thurgood L.A., Wang T., Chataway T.K., Ryall R.L. Comparison of the Specific Incorporation of Intracrystalline Proteins into Urinary Calcium Oxalate Monohydrate and Dihydrate Crystals // *Journal of Proteome Research*. 2010. Vol. 9. № 9. P. 4745–4757.
10. *Amino acids in urine and plasma of urolithiasis patients* / K.Kohri, M.Takada, Y.Katon, K.Kataoka, M.Iguchi, T.Kurita // *International Urology and Nephrology*. 1989. Vol. 21. № 1. P. 9–16.
11. Голованова О.А., Корольков В.В., Смолий В.А. Роль органической компоненты в формировании патогенных минералов // Системы. Методы. Технологии. 2013. № 1 (17). С. 123–131.
12. Rimer J.D., Kolbach-Mandel A.M., Ward M.D., Wesson J.A. The Role of Macromolecules in

- the Formation of Kidney Stones // *Urolithiasis*. 2017. Vol. 45. № 1. P. 57–74. doi:10.1007/s00240-016-0948-8.
13. *Comparison of matrix proteins in different types of urinary stone by proteomic analysis using liquid chromatography–tandem mass spectrometry*/K.Kaneko, R.Kobayashi, M.Yasuda, Y.Izumi, T.Yamanobe and Shimizu T. // *International Journal of Urology*. 2012. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2012.03005.x
 14. Шанина С.Н., Голубев Е.А. Аминокислоты в шунгитах Карелии // *Геохимия*. 2010. Т. 48. № 9. С. 972–987.
 15. Amosova O.Ye., Golubev Ye.A., Shanina S.N. Discriminant analysis of amino acid composition of natural carbonaceous substances // *Vestnik IG Komi SC UB RAS*. 2016. № 11. P. 46–53.
 16. Унгурияну Т.Н., Гржибовский А.М. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса в программе STATA // *Экология человека*. 2014. № 6. С. 55–58.
 17. *How to predict Membership, Classification trees*. URL: <http://www.statsoft.com/Textbook/Classification-Trees> (accessed: 05.03.2018).
 18. *Деревья классификации*. URL: http://www.statlab.kubsu.ru/sites/project_bank/trees.pdf (дата обращения: 29.03.2018).
 19. Клекка У.Р. Дискриминантный анализ // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. С. 78–138.

References

1. Katkova V.I. Mochevye kamni. [Urinary stones]. Syktyvkar, 1996. 87 p.
2. *Zabolevaemost' vsego naselenija Rossii v 2016 godu*. Statisticheskie materialy [Disease rate of the entire population of Russia in 2016. Statistical materials]. Part II. Moscow, 2017. 142 p.
3. *Voshchula V.I. Mochekamennaja bolezni'. Jettiotropnoe i patogeneticheskoe lechenie, profilaktika*. [Urolithiasis. Etiotropic and pathogenetic treatment, prevention]. Minsk, VEVER Publ., 2006. 268 p.
4. *Proteins in renal stones and urine of stone formers* / A.A.Siddiqui, N.P.Buchholz, T.Sultana, M.A.Waqar, J.Talati. // *Urological Res*. 1998. Vol. 26. P. 383–388.
5. Stock A, Yadav K.K., Gupta M. Analysis of Methods for Extracting Matrix Proteins from Human Kidney Stones // *Urology & Nephrology Open Access J*. 2017. Vol. 4. Issue 1. DOI: 10.15406/unoaj.2017.04.00111
6. *Pyatanova P.A., Golovanova O.A., Rosseyeva E.V. Analiz belkovykh soedinenij urolitov* [Analysis of protein compounds in uroliths] // *Mineralogija tehnogeneza* [Mineralogy of technogenesis]. Proc. of the meeting. Miass, 2003. P. 132–142.
7. Basavaraj D.R., Biyani C.S. The role of urinary kidney stone inhibitors and promoters in the pathogenesis of calcium containing renal stones // *EAU – EBU*. 2007. S. 5. P. 126–136. doi:10.1016/j.eeus.2007.03.002

8. *Katkova V.I., Shanina S.N., Borovkova E.V.* Aminokisloty: strukturoobrazujushhie komponenty biomineralov i markery processov biosinteza [Amino acids: structure-forming components of biominerals and markers of biosynthesis] // ZRMO. 2008. No. 5. P. 80–85.
9. *Thurgood L. A., Wang T., Chataway T.K., Ryall R. L.* Comparison of the Specific Incorporation of Intracrystalline Proteins into Urinary Calcium Oxalate Monohydrate and Dihydrate Crystals // J. of Proteome Res. 2010. Vol. 9. № 9. P. 4745–4757.
10. *Amino acids in urine and plasma of urolithiasis patients* / K.Kohri, M.Takada, Y.Katon, K.Kataoka, M.Iguchi, T.Kurita // International Urology and Nephrology. 1989. Vol. 21. No. 1. P. 9–16.
11. *Golovanova O.A., Korol'kov V.V., Smolij V.A.* Rol' organicheskoj komponenty v formirovanii patogennyh mineralov [Role of organic component in pathogenic mineral formation] // Sistemy. Metody. Tehnologii. [Systems. Methods. Technologies]. 2013. No. 1 (17). P. 123–131.
12. *Rimer J.D., Kolbach-Mandel A.M., Ward M.D., Wesson J.A.* The Role of Macromolecules in the Formation of Kidney Stones // Urolithiasis. 2017. Vol.45. №1. P. 57–74. doi:10.1007/s00240-016-0948-8.
13. *Comparison of matrix* proteins in different types of urinary stone by proteomic analysis using liquid chromatography–tandem mass spectrometry/K.Kaneko, R.Kobayashi, M.Yasuda, Y.Izumi, T.Yamanobe, T.Shimizu // Intern. J. of Urology, 2012. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2012.03005.x
14. *Shanina S.N., Golubev E.A.* Aminokisloty v shungitah Karelii [Amino acids in Karelian shungites] // Geochemistry. 2010. Vol. 48. No. 9. P. 972–987.
15. *Amosova O.Ye., Golubev E.A., Shanina S.N.* Diskriminantnyj analiz aminokislotnogo sostava prirodnih uglerodistyh veshhestv [Discriminant analysis of amino acid composition of natural carbonaceous substances] // Bull. of Inst. of Geology, Komi Science Centre, Ural Branch, RAS. 2016. No. 11. P. 46–53.
16. *Unguryanu T.N., Grzhibovskiy A.M.* Sravnenie treh i bolee nezavisimyh grupp s ispol'zovaniem neparametricheskogo kriterija Kraskela-Uollisa v programme STATA [Comparison of three independent groups using non-parametric Kruskal-Wallis test in STATA software] // Ekologija cheloveka [Human Ecology]. 2014. No. 6. P. 55–58.
17. *How to predict Membership, Classification trees.* URL: <http://www.statsoft.com/Textbook/Classification-Trees> (accessed: 05.03.2018).
18. *Derev'ja klassifikacii* [Classification trees]. URL: http://www.statlab.kubsu.ru/sites/project_bank/trees.pdf (accessed: 29.03.2018).
19. *Klekka U.R.* Diskriminantnyj analiz [Discriminant analysis] // Faktornyj, diskriminantnyj i klasternyj analiz [Factorial, discriminant and cluster analysis]. Moscow: Finances and statistics Publ., 1989. P. 78–138.

Статья поступила в редакцию 22.05.2019.