

- verity of acute pancreatitis // Eur. J. Surg. — 1997. — Vol. 163, № 12. — P.915-922.
77. Nordback I.C.H., Auvinen O.A. Long-term results after pancreas resection for acute necrotizing pancreatitis // Br. J. Surg. — 1985. — Vol. 72. — P.687-689.
 78. Rabenec L., Fenstein A., Horwitz R. A new clinical prognostic staging system for acute pancreatitis // Amer. J. Med. — 1993. — Vol. 95. — P.61-70.
 79. Radovanovic D., Matovic Z., Nedelicovic V. Etiology of acute // Intern. Conf. Emerg. Surg. Belgrade, Yugoslavia. — 1996. — P.54.
 80. Rattner D.W., Link A., Legermate D.A., et al. Early surgical debridement of symptomatic pancreatic necrosis is beneficial irrespective of infection // Am. J. Surg. — 1992. — Vol. 163. — P.105-110.
 81. Rau B., Pralle U., Mayer J.M., et al. Role of ultrasonographically guided fine needle aspiration cytology in diagnosis of infected pancreatic necrosis // Brit. J. Surg. — 1998. — Vol. 85. — P.179-184.
 82. Rau B., Steinbach G., Gansauge F., et al. The potential role of procalcitonin and interleukin 8 in the predication of infected necrosis in acute pancreatitis // Gut. — 1997. — Vol. 41. — P.832-840.
 83. Schylmerich J. Interleukins in acute pancreatitis // Scand. J. Gastroent. — 1996. — Vol. 219. — P.37-42.
 84. Shulz H.U., Niederau C., Klonowski-Stumpe H. Oxidative stress in acute pancreatitis // Hepatogastroenterology. — 1999. — Sep.-Oct. — P.2736-2750.
 85. Tsai K., Wang S.S., Chen T.S. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenetic significance in the progression of acute pancreatitis // Gut. — 1998. — Vol. 42, № 6. — P.850-855.
 86. Uhl W., Buchler M., Malfertheiner P., et al. PMN-elastase in comparison with CRP, antiproteases and LDH as indicators of necrosis in human acute pancreatitis // Pancreas. — 1991. — Vol. 6. — P.253-259.
 87. Uhl W., Isenmann B., Buhler M.W. Infection, complicated pancreatitis // New Horiz. — 1998. — Vol. 6, № 2. — P.572-579.
 88. Wereszczynska Siemistowska U. Oxydative stress as an early prognostic factor in acute pancreatitis // Pancreas. — 1998. — Vol. 17, № 2. — P.163-168.
 89. Widdison A.L., Karanjia N.D. Pancreatic infection complicating acute pancreatitis // Br. J. Surg. — 1993. — Vol. 80. — P.148-154.
 90. Williams M., Simms H.H. Prognostic usefulness of scoring systems in critically ill patients with severe acute pancreatitis // Crit. Care Med. — 1999. — Vol. 27. — P.901-907.
 91. Yamamoto M., Takeyama Y., Ueda T. Surgical treatment for severe acute pancreatitis // Hepatogastroenterol. — 1997. — Vol. 44, № 18. — P.156-164.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© ОСКИРКО С.А., САЛМИН В.В., ЛАЗАРЕНКО В.И., ПРОВОРОВ А.С., ВЛАДИМИРОВА Е.С., ФОКИНАД.С., САЛМИНАА.Б. — 2007

ЛАЗЕРНО-ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА СТАДИЙ ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТЫ

С.А. Оскирко, В.В. Салмин, В.И. Лазаренко, А.С. Проворов, Е.С. Владимирова, Д.С. Фокина, А.Б. Салмина

(Красноярская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. И.П. Артюхов, кафедра глазных болезней, зав. — д.м.н., проф. В.И. Лазаренко; кафедра квантовой электроники ГОУ ВПО СибФУ, зав. — д.ф.-м.н., проф. А.С. Проворов; НИИ молекулярной медицины и патобиохимии КрасГМА, руководитель — д.м.н., проф. А.Б. Салмина)

Резюме. В настоящее время основным методом диагностики катаракты является биомикроскопия на щелевой лампе, имеющим значительную степень субъективизма. Целью исследования явилась разработка методики объективной диагностики стадий возрастной катаракты с помощью флуоресцентного анализа. Для проведения исследования аутофлуоресценции хрусталика использовался лазерный спектрофлуориметр. Выявлены закономерные изменения индекса помутнения хрусталика от стадии возрастной катаракты.

Ключевые слова: хрусталик человека, возрастная катаракта, эндогенные флуорофоры, аутофлуоресценция.

Катаракта является наиболее частой причиной понижения зрения и слепоты. Распространенность катаракты по критерию обращаемости составляет 1201,5 на 100 тыс. населения (абс. число 1 742 250 чел) [3].

Важным фактором патогенеза катаракты является окислительное повреждение молекул хрусталика. Окислительный стресс рассматривается как универсальное звено гибели клеток (апоптоз и некроз). Основной мишенью для прооксидантов являются клетки эпителия и растворимые белки хрусталика. Эпителий линзы — слой кубических клеток поверхности хрусталика, который поддерживает метаболический гомеостаз и прозрачность хрусталика. Эпителий хрусталика подвергается окислительному повреждению, вследствие чего происходят изменения эпителиальных клеток хрусталика, прекращение роста клетки и нарушения ионного гомеостаза, что и вызывает апоптоз эпителиальных клеток хрусталика, вследствие чего происходит формирование возрастной катаракты [7,8,9].

Более 90% водорастворимых белков хрусталика человека приходится на долю α -, β - и γ -кристаллинов — его основных структурных белков. Они играют ключевую роль в поддержании прозрачности хрусталика и его преломляющей силы. α - кристаллины обладают шаперонподобной активностью и способны предотвращать тепловую агрегацию β - и γ -кристаллинов, а также некоторых ферментов, как например алкогольдегидрогеназа, цитратсинтетаза, карбоангидраза. α -кристаллин, обладая шаперонной активностью и эффективно препятствуя агрегации β - и γ -кристаллинов, поддерживает прозрачность хрусталика на протяжении всей жизни. С возрастом структура самого α - кристаллина может нарушаться в результате воздействия ультрафиолетового или окислительного повреждения и других факторов происходит ослабление его шаперонной активности. Вследствие этого происходит агрегация, в первую очередь γ -, а затем и β -кристаллина, происходит образование высокомолекулярных агрегатов, вызывающих

помутнение хрусталика и увеличение в нем светорассеяния, что является важным компонентом патогенеза возрастной катаракты [1]. Важнейшим элементом для предотвращения агрегации γ -, а также β -кристаллинов является шаперонная функция α -кристаллина, который также защищает клетки от действия апоптогенных факторов [7].

Актуальность проблемы диагностики и выбора оптимальной тактики лечения катаракты является наиболее ранняя ее идентификация и, по возможности, объективизация степени помутнения хрусталика.

Одним из основных способов исследования хрусталика в настоящее время является биомикроскопия с использованием щелевой лампы, в основе которой лежит явление рассеяния света средами с явно выраженными оптическими неоднородностями [2]. Недостатком метода диагностики катаракты с применением щелевой лампы является его субъективность.

Измерение флуоресценции хрусталика — быстрый, объективный и неразрушающий метод, который может обеспечить информацией относительно изменений в хрусталике. Самое раннее утверждение об изменении интенсивности флуоресценции хрусталика с возрастом относят к Kienes (1899), который доказал, что хрусталик флуоресцирует интенсивнее в пожилом возрасте [10].

Собственная ультрафиолетовая флуоресценция определяется, главным образом, свечением белков. Уменьшение передачи видимого света в стареющем хрусталике и при катаракте происходит главным образом из-за накопления в хрусталике флуорофоров, в том числе их окисленных форм [5,11].

При люминесцентном анализе хрусталика наибольший интерес представляют триптофан и никотинамидадениндинуклеотиды (НАДН и НАДФН), изменение флуоресценции последних соответствует сдвигу в соотношении окисленных и восстановленных форм и является показателями активности метаболических процессов в хрусталике, характеризует его функциональное состояние [12].

Целью данного исследования явилась разработка методики объективной диагностики стадий возрастной катаракты с помощью флуоресцентного анализа.

Материалы и методы

Были обследованы 3 группы людей: в 1-ую группу (38 человек) входили здоровые люди, средний возраст $20 \pm 1,3$ лет, без нарушения функции зрения, во 2 (27) — здоровые люди, средний возраст $53 \pm 1,8$ года, без нарушения функции зрения (со сформировавшимся ядром хрусталика — факосклероз), в 3 (69) — больные возрастной катарактой разной степени зрелости, средний возраст $66 \pm 1,9$ года. Мужчины составили 53,2%, женщины — 46,8%.

Для постановки диагноза все люди прошли комплексное офтальмологическое обследование, включающее: остроту зрения по таблицам Сивцева-Головина, биомикроскопию на щелевой лампе «Карл Цейс», офтальмоскопию, электро-функциональные исследования.

Для проведения исследования аутофлуоресценции хрусталика использовался лазерный спектрофлуориметр с оптоволоконной доставкой излучения, представленный на рис. 1. Устройство работает следующим образом: импульсно-периодический лазер 1, формирует излучение с длиной волны 337 нм, которое доставляется через оптическое волокно 2 до окулярного зонда 3. Излучение из оптического волокна 2 попадает на хрусталик 4. Под действием излучения лазера в тканях хрусталика возбуждается флуоресценция. Излучение флуоресценции попадает на торец оптического волокна 5 и доставляется до спектрометра 6, элек-

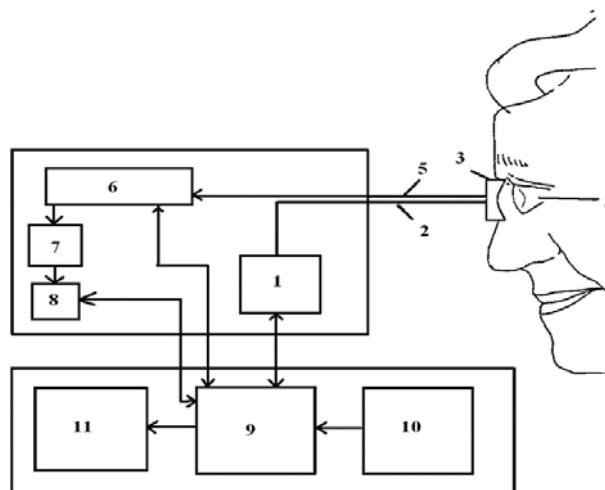


Рис. 1. Лазерный спектрофлуориметр с оптоволоконной доставкой излучения.

трический сигнал с которого поступает на усилитель 7, усиленный сигнал поступает на аналого-цифровой преобразователь 8. Данные с аналого-цифрового преобразователя поступают в программируемое устройство управления и обработки данных 9. Устройство управления и обработки данных 9 устанавливает необходимую длину волны на спектрометре 6, формирует импульс запуска для лазера 1, формирует команду на получение данных с аналого-цифрового преобразователя 8 и осуществляет получение и обработку данных. Результатом обработки является значение индекса помутнения хрусталика.

Собственную флуоресценцию хрусталика регистрируют на трех длинах волн 400, 440 и 500 нм, две из которых 400 и 500 нм являются изобестическими, а 440 нм — длина волны, при которой спектры флуоресценции хрусталика здоровых и больных катарактой, имеют максимальную амплитуду отклонения. Диагноз ставят в зависимости от значения индекса помутнения, который рассчитывают по формуле (1):

$$\alpha = \frac{\frac{I_{440}^H}{I_{400}^H - I_{500}^H} - \frac{I_2}{I_1 - I_3}}{\frac{I_{440}^K}{I_{400}^K - I_{500}^K} - \frac{I_{440}^H}{I_{400}^H - I_{500}^H}} \quad (1)$$

где α — индекс помутнения хрусталика; I_1 — интенсивность флуоресценции на длине волны 400 нм; I_2 — интенсивность флуоресценции на длине волны 440 нм; I_3 — интенсивность флуоресценции на длине волны 500 нм; $I_{400,440,500}^H$ — усредненные значения интенсивности флуоресценции для людей с прозрачным хрусталиком, на соответствующих длинах волн; $I_{400,440,500}^K$ — усредненные значения интенсивности флуоресценции для людей с катарактальным хрусталиком, на соответствующих длинах волн.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента и метода корреляционного анализа. Критический уровень значений при проверке статистических гипотез $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Значения α для сформированных групп составило: при значениях $\alpha = 0-0,40$ диагностируют отсутствие изменений хрусталика, при $\alpha = 0,41-0,60$ — факосклероз, при $\alpha = 0,61-0,80$ — начальную возрастную катаракту, при $\alpha = 0,81-0,90$ — незрелую возрастную катаракту, при $\alpha = 0,91-1,0$ — зрелую возрастную катаракту. Полученное значение индекса помутнения хрусталика сопоставляют с интервалами значений степени помутнения хрусталика на разных стадиях развития катаракты, и ставится диагноз.

Применение ультрафиолетового излучения с длиной волны 337 нм обосновано тем, что именно излучение этого диапазона максимально поглощается хрусталиком

и не поглощается другими средами глаза, например, роговицей и влагой глаза и не вызывает повреждения тканей глаза [4].

Необходимо отметить, что вследствие накопления флуорофоров в хрусталике с возрастом [5,11] соответственно происходит изменение автофлуоресценции, и при значениях $\alpha = 0,58-0,60$ больного можно отнести к группе риска по развитию возрастной катаракты, что диктует необходимость проведения профилактических мероприятий по ее предотвращению.

Мы считаем, что причиной изменения флуоресценции на разных стадиях развития возрастной катаракты является изменение соотношения восстановленных и окисленных форм пиридиновых нуклеотидов. С учетом того, что при возбуждении длиной волны 337 нм имен-

но эти молекулы доминируют в качестве фотоакцепторов, мы полагаем, что предлагаемый нами метод диагностики стадий возрастной катаракты является объективным и патогенетически обоснованным. Выявленные нами изменения характера аутофлуоресценции хрусталика подтверждают важность нарушения окислительно-восстановительных процессов в механизмах формирования и прогрессирования катаракты.

Таким образом, предлагаемый нами метод диагностики возрастной катаракты позволяет с высокой степенью точности диагностировать стадии ее развития, сократить время проведения диагностики, исключить субъективную оценку, сформировать группу риска по развитию возрастной катаракты, что в свою очередь позволит оптимизировать лечебную тактику.

LASER-FLUORESCENT DIAGNOSTICS OF AGE CATARACT STAGES

S.A. Oskirko, V.V. Salmin, V.I. Lazarenko, A.S. Provorov, E.S. Vladimirova, D.S. Fokina, A.B. Salmina
(Krasnoyarsk State Medical Academy, Siberian Federal University, Research Institute for Molecular medicine and Pathobiochemistry)

At present, biomicroscopy with slit lamp is a main method for diagnostics of cataract. However, this method has high degree of subjectivism. Therefore, the goal of our study was to develop objective method for age cataract diagnostics using fluorescent analysis. Laser spectrofluorimeter has been used for assessment of lens autofluorescence. We have found changes in lens turbidity index depending on a stage of age cataract.

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский М.А. Молекулярные механизмы повреждающего действия света на структуры глаза и системы защиты от такого повреждения // Успехи биологической химии. — 2005. — Т. 45. — С.194-198.
2. Шульпина Н.Б. Биомикроскопия глаза. — М.: Медицина, 1974. — 35 с.
3. Южаков А.М. Основные направления в ликвидации устранимой слепоты в Российской Федерации // Материалы Российского межрегионального симпозиума «Ликвидация устранимой слепоты: всемирная инициатива ВОЗ». — Уфа, 2003. — С.29.
4. Andersson-Engels S., Claes af K., Svanberg K., Svanberg S. In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics // Phys. Med. Biol. — 1997. — Vol. 42, № 5. — P.815-824.
5. Bessems G., Keizer E., Wollensak J., Hoenders H.J. Non-tryptophan fluorescence of crystallins from normal and cataracts human lenses // Ophthalmol. Vis. Sci. — 1987. — Vol. 28, № 7. — P.1157-1163.
6. Duncan G., Wormstone I.M., Davies P.D. The aging human lens: structure, growth and physiological behavior // Br. J. Ophthalmol. — 1997. — Vol. 81, № 10. — P.818-823.
7. Lee E.H., Wan X.H., Song J., et al. Lens epithelial cell death and reduction of anti-apoptotic protein Bcl-2 in human anterior polar cataracts // Mol. Vis. — 2002. — Vol. 8, № 6. — P.235-240.
8. Li W.C., Kuszak J.R., Wang G.M., et al. Calcimycin-induced lens epithelial cell apoptosis contributes to cataract formation // Exp. Eye Res. — 1995. — Vol. 61, № 1. — P.91-98.
9. Long A.C., Carmen M.H., Bomser J.A. Apoptotic and necrotic mechanisms of stress-induced human lens epithelial cell death // Experimental Biology and Medicine. — 2004. — Vol. 229. — P.1072-1080.
10. Siik S. Lens autofluorescence: in aging and cataracts human lenses, clinical applicability. — Oulu, Finland: Oulu University Library. 1999. — P.15-28.
11. Yappert M.C., Borchman D., Byrdwell W.C. Comparison of specific blue and green fluorescence in cataracts versus normal human lens fractions // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1993. — Vol. 34, № 3. — P.630-636.
12. Yavari N. Optical spectroscopy for tissue diagnostics and treatment control: Doctoral Thesis. — Bergen, Norway, 2006. — P.95-97.

© ЦЫБИКОВ Н.Н., МАСЛО Е.Ю. — 2007

ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНИТЕТА ПРИ КОИНФЕКЦИИ ВИЧ И ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ

Н.Н. Цыбиков, Е.Ю. Масло

(Читинская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. А.В. Говорин, кафедра патофизиологии, зав. — д.м.н., проф. Н.Н. Цыбиков; Областной центр по профилактике и борьбе со СПИД, глав. врач — А.Н. Бутыльский)

Резюме. В статье представлены результаты исследования иммунного статуса больных ВИЧ-инфекцией в 3 стадии (субклинической) без поражения печени и, страдающих хроническими вирусными гепатитами С и С+В. Сравнение показателей иммунограмм данных категорий больных с контролем (здоровыми донорами) выявило следующие изменения: уменьшение популяции CD3+4+ лимфоцитов и падение индекса CD4+/CD8+, а также ответа нейтрофилов на стимуляцию. Эти сдвиги являются отражением иммуносупрессивного действия ВИЧ. Иммунитет в условиях коинфекции ВИЧ+гепатит характеризуется гиперстимуляцией Т-клеточного звена за счет CD3+8+, несущих функцию антивирусной защиты.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, микст-гепатиты, ВИЧ-инфекция, коинфекция, иммунный статус.

По данным ВОЗ сотни миллионов человек в мире инфицированы гепатотропными вирусами, которые характеризуются как повсеместным распространением, так и высоким уровнем патогенности. Вирусный гепа-

тит С является одной из актуальных проблем мировой медицины в связи с широкой распространенностью, летальностью течения и выраженностью неблагоприятных исходов — цирроза печени и гепатоцеллюлярной