

Український журнал

**МЕДИЧНОЇ
ТЕХНІКИ
І ТЕХНОЛОГІЇ**



1-2

1995

проявления — либидо, эрекцию. Стимулирующее влияние этих магнитных аппаратов, возможно, связано с усилением кавернозного кровотока. Побочных и неблагоприятных эффектов при использовании аппаратов не отмечено.

1. *Влияние магнитных полей на биологические объекты.* — М.: Наука, 1971. — 218 с.

2. *Влияние естественных и слабых искусственных магнитных полей на биологические объекты.* — Белгород: Книж. изд-во, 1973. — 102 с.

3. *Пресман А.С.* Электромагнитная сигнализация в живой природе (факты, гипотезы, пути исследований). — М.: Сов. радио, 1974. — 312 с.

4. *Копанев В.И., Шахула А.В.* Влияние гипогеомагнитной среды на биологические объекты. — Л.: Наука, 1985. — 210 с.

5. *Холодов Ю.А., Козлов А.Н., Горбач А.М.* Магнитные поля биологических объектов. — М.: Наука, 1987. — 178 с.

6. *Холодов Ю.А.* Реакции нервной системы на электромагнитные поля. — М.: Наука, 1975. — 210 с.

7. *Райгородский Ю.М., Курдин Ю.А., Филипов Ю.В., Блохина Ю.А.* Применение искусственных магнитных полей в экспериментальной и клинической медицине. Ч. II. — М.: ЦНИИ "Электроника", 1987. — 106 с.

8. *Классон В.И.* Омагничивание водных систем. — М.: Химия, 1982. — 322 с.

9. *Волькенштейн М.В.* Наука и человечество. — М.: Знание, 1968. — 167 с.

10. *Биогенный магнетит и магниторецепция.* Новое о биомагнетизме: В 2-х т. Т. 1: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Киргвинка, Д. Джонса, Б. Мак-Фаддена. — М.: Мир, 1989. — 406 с.

11. *Бородюк О.О., Смердов А.А., Татарин В.Я.* Спосіб корекції фізіологічних процесів. Патент України по заявці № 94041780 від 25.04.94.

12. *Влияние импульсного электромагнитного поля низкой частоты на организм/ Г.И. Евтушенко, Ф.А. Колодуд и др.* — Киев:Здоров'я, 1978. — 236 с.

*Ин-т урологии и нефрологии
АМН Украины, Киев
НПК "Мотом", Львов*

Получено 27.01.95

*Л. Носкин, М. Павлов, А. Силина, Е. Буйко, Д. Андронов,
В. Соколовский, В. Николаевский, Ю. Бажора, Е. Никитин, В. Ярных*

ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ДИФТЕРИИ

Описано можливість використання методу лазерної кореляційної спектроскопії для діагностики дифтерії, неспецифічних ангін і бактеріоносійства дифтерійної палички. Наведено дані клінічних досліджень. Показана перспективність методу.

It is shown possible to use laser correlation spectroscopy for diagnostics of diphtheria, nonspecific anginas and bacteriocarriage of diphtheria bacillus. Data of clinical testings and potentiality of the method are described.

Заболєваемість дифтерією в нашій країні протягом тривалого часу була на рівні спорадических випадків і вибухів практично не спостерігалося [1-3], тому методи діагностики дифтерії не вдосконалювалися. Перші вибушки захворювання в кінці 80-х — на початку 90-х років чітко продемонстрували недосконалість методів бактеріологічної і серологічної діагностики. В даний час дифференціальна діагностика дифтерії і неспецифічних ангін значно ускладнена. В зв'язі з цим розробка нових і вдосконалення

традиційних методів діагностики дифтерії є актуальною задачею.

В літературі останніх років з'явилися повідомлення про можливість використання методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) для діагностики різних захворювань. Метод ЛКС оснований на аналізі спектра когерентного випромінювання, розсіяного досліджуванними частинками. Застосування ЛКС в біології до недавнього часу обмежувалося дослідженням монодисперсних систем або систем з певним складом. Недосконалість застосованого математичного

© Л. Носкин, М. Павлов, А. Силина и др., 1995

аппарата не позволило с достаточной степенью достоверности получать информацию о составе гетерогенных систем, в том числе таких сложных, как нативные биологические жидкости. Использование ЛКС для исследования биологических жидкостей (сыворотка и плазма крови, спинномозговая жидкость (СМЖ) и др.) стало возможным с появлением процедуры регуляризации интегрального спектра. Применение методов регуляризации спектров ЛКС в биологии и медицине позволило восстановить распределение частиц исследуемого образца по коэффициентам диффузии и, следовательно, их гидродинамическим радиусам (диаметрам) [4].

Первые сообщения об использовании такой модификации ЛКС в медицине появились в 1987 г. В работе [5] изучалась сыворотка крови здоровых людей, а также больных вирусным гепатитом и другими инфекционными заболеваниями. Разные исследователи [4, 5] сошлись во мнении, что метод ЛКС открывает новые подходы в изучении вирусемии и других патогенетических аспектов различных патологий.

Существующие в настоящее время методы определения отдельных ингредиентов гомеостатической системы разнообразны, все они требуют набора многочисленной аппаратуры и реактивов, занимают, как правило, много времени. Кроме того, отдельные исследования ингредиентов не позволяют объективно оценить факторы межмолекулярного взаимодействия, определяющие процессы ассоциации и диссоциации различного генеза надмолекулярных комплексов. Следовательно, методы, нивелирующие указанные недостатки, несомненно перспективны для раннего выявления изменений гомеостаза. Известно, что характер субфракционного спектра ЛКС зависит от содержания в сыворотке крови как нормальных, так и патологических ингредиентов. Метод ЛКС интегрально отражает содержание этих веществ, их межмолекулярные связи и соотношения.

Исходя из этого, мы предположили, что появление в крови больных дифтерийного токсина приводит к изменению субфракционного состава и межмолекулярных связей в сыворотке крови. Поэтому задачей данного исследования явилось изучение диагностической информативности ЛКС при дифтерии, неспецифических ангинах и бактерионосительстве дифтерийной палочки.

Забор крови и подготовка образцов к исследованию. Кровь брали из пальца, применяя разовые скарификаторы и пластиковые капилляры. Цельную кровь (0,1 мл) вносили в пробирку типа "эппендорф", содержащую 0,4 мл стерильного физиологического раствора, осторожно перемешивали. Полученные образцы центрифугировали в настольной центрифуге со скоростью $(3-4) \cdot 10^3$ об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. Отбирали 0,2-0,3 мл надосадочной жидкости и переносили ее в чистую пробирку, которую герметично закрывали и до проведения измерений хранили при -10°C не более четырех недель. Непосредственно перед измерением образцы разводили стерильным физиологическим раствором в отношении 1:5.

Субфракционный состав сыворотки крови исследовали в ЛК-спектрометре, созданном в С.-Петербургском институте ядерной физики РАН. Регуляризация спектра оптического смещения, регистрируемая фотоэлектронным усилителем, осуществлялась методом обратного решения спектральных задач по специально разработанным программам. Вид спектра заносился в память ЭВМ (IBM PC/AT) с помощью специально разработанной многомерной матрицы.

Спектры, принадлежащие каждой выделенной нами референтной группе, обрабатывали методами объемной вариационной статистики и записывали в графическом и табличном видах. Площади эллипсов, изображенных на классификаторах, соответствовали следующим математическим ожиданиям: внутренний эллипс — 90 %, наружный — 70 % принадлежности спектров данной совокупности. Процесс заполнения, измерения и классификации каждого образца длился 6-8 мин.

С помощью ЛКС исследовали сыворотку крови 74 больных. Из них 29 человек больны дифтерией, 28 — ангиной, 17 — бактерионосители. В память машины соответствующие группы заносили следующими символами: *d* — дифтерия; *a* — ангина; *b* — бактерионосительство. Цифры при буквах соответствуют исследованиям: 1 — при поступлении; 2 — после введения сыворотки или проведения курса лечения; 3 — при выписке больного из клиники.

Интерпретация данных ЛКС методом объемных классификаторов. Многокомпонентный характер изменчивости параметров ЛК-спектров создает значительные трудности в визуальной интерп-

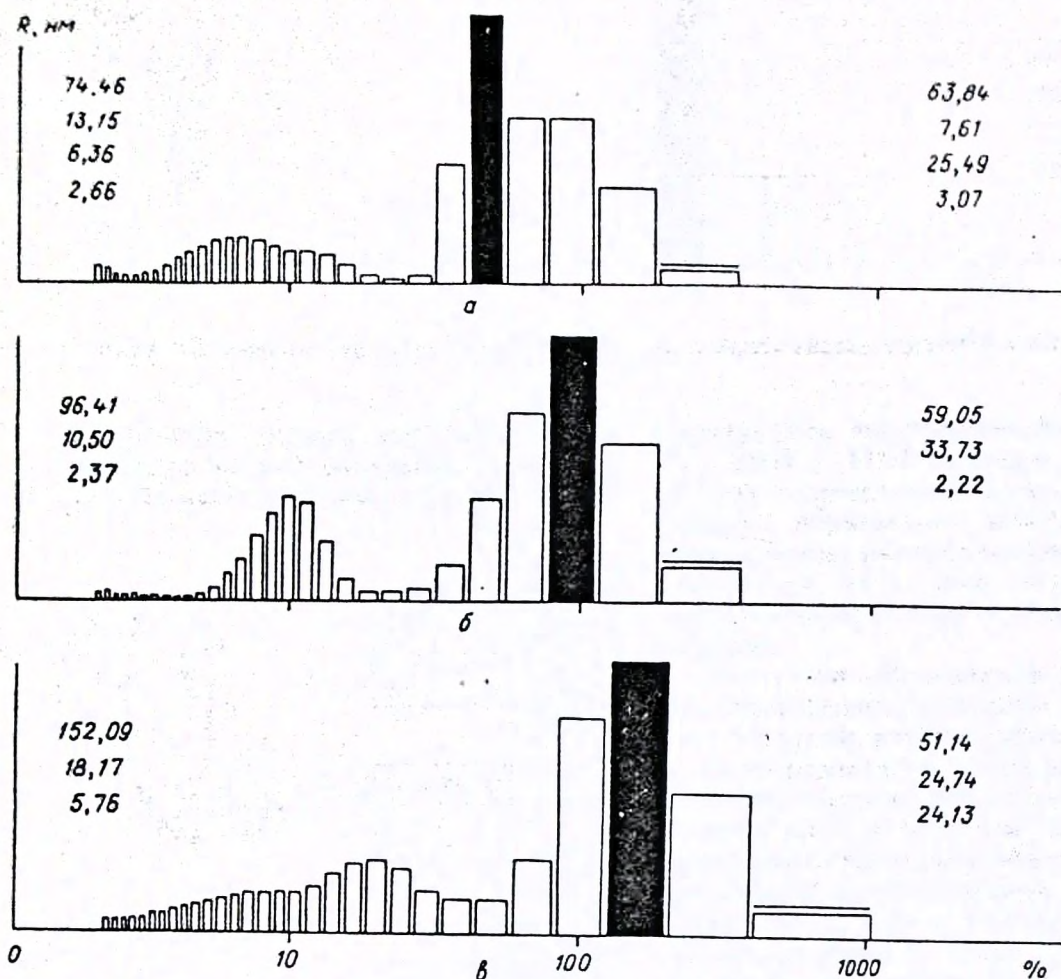


Рис. 1. Суммарные спектры систем гомеостаза больных дифтерией (а), ангиной (б) и бактерионосителей (в) при поступлении в клинику

ретации, поэтому статистически значимые сдвиги в системе гомеостаза, регистрируемые ЛКС, могут быть определены только с использованием специально разработанных нами программ классификаторов, базирующихся на методах теории групп и заключающихся в анализе исходных функций распределения частиц по размерам в многомерном пространстве. С помощью описанных классификаторов можно определить статистический характер сдвигов в системе гомеостаза.

Результаты обследования. Суммарные спектры систем гомеостаза каждой из трех исследуемых групп больных до лечения представлены на рис. 1 (на оси абсцисс отмечен размер частиц, рассеивающих свет (нм); ординат — процент вклада субфракции в общую интенсивность светорассеяния; распечатка на графиках соответствует рассчитанным средним значениям мод спектров и их вкладам в интенсивность рассеяния).

Основной отличительной особенностью спектра при дифтерии является резко ограниченный в сторону уменьшения размеров диапазон визуализируемых частиц (в спектре отсутствуют частицы свыше 200 нм). Следует заметить, что данный эффект наблюдается на фоне заметной гиперальбуминемии, поскольку в гистограмме преобладают частицы размером 3–20 нм. Состояние гомеостаза, близкое к описанному, отмечается и у больных ангиной. Отличием является лишь сдвиг в сторону существенного увеличения глобулиновой фракции, о чем свидетельствует повышение модального значения фракции в диапазоне до 20 нм. Наконец, в случае бактерионосительства возбудителя дифтерии ингибирование процессов образования иммунных комплексов не наблюдалось. Молекулярный вес данной фракции соответствовал размерам, приведенным для контрольной группы (рис. 2). Вместе с тем наблюдается заметная

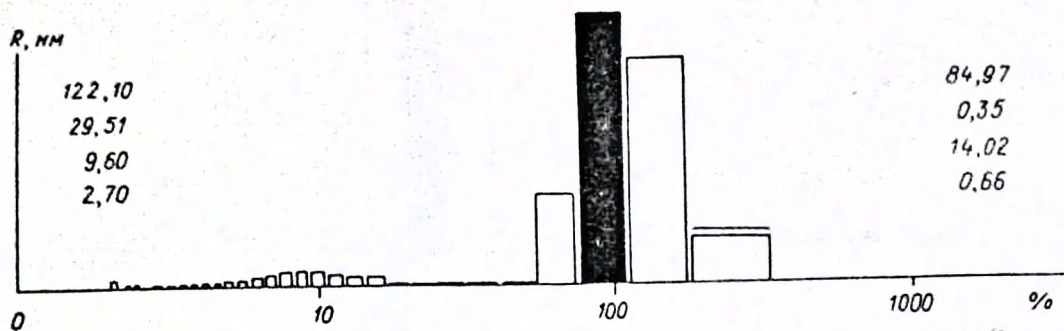


Рис 2. Усредненный спектр субфракционного состава сыворотки крови лиц контрольной группы

активизация синтеза интермедиатов в диапазоне частиц размером 40–100 нм, что отвечает диапазону частиц, харак-

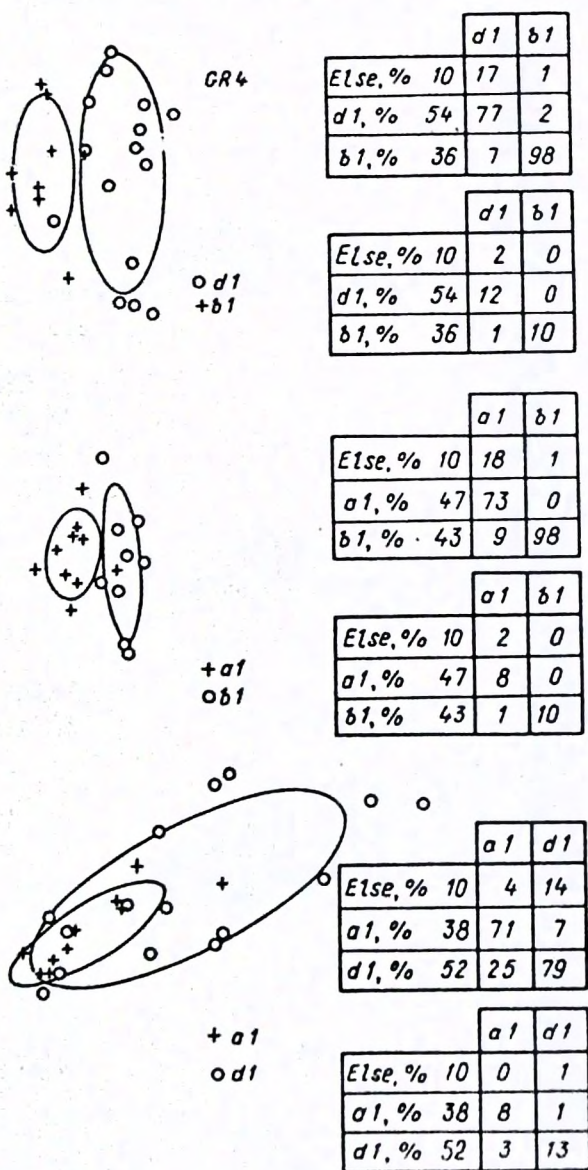


Рис 3. Плоскостные изображения данных классификации ЛК-спектров групп больных дифтерией, ангиной и бактерионосителей

теризующих липопротеиновые комплексы, РНП-, ДНП-частицам. Сочетание данных по интермедиатам с сохраненным уровнем образования иммунных комплексов можно интерпретировать как анаболическую активацию, возможно, связанную с включением механизмов иммунитета.

Итак, при заболеваниях дифтерией и ангиной зарегистрированы сдвиги в сыворотке крови, которые резко отличаются от гистограмм при бактерионосительстве. В полном соответствии с характером описанных выше гомеостатических сдвигов представляются и результаты дифференцированной классификации (рис. 3). Совершенно очевидно, что дифференцирование дифтерии и ангины (до 98 %) от бактерионосительства практически полное, а дифтерий от ангины несколько ниже (до 75 %). Эти результаты вероятнее всего

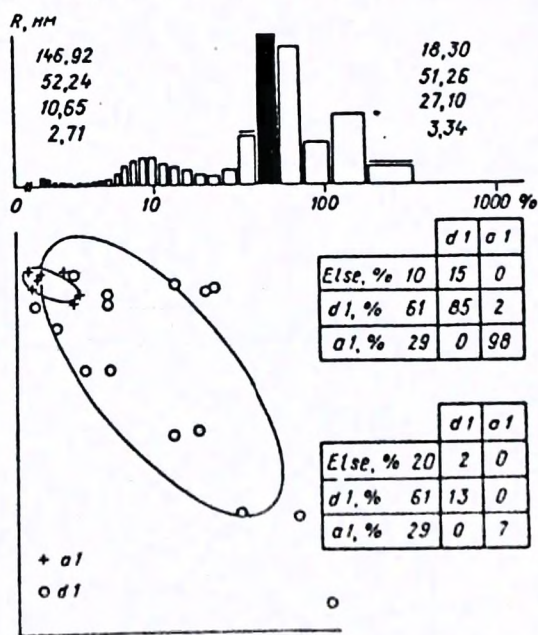


Рис 4. Спектральная характеристика и плоскостные изображения классификации ЛК-спектров группы больных ангиной из зоны перекрытия с группой больных дифтерией

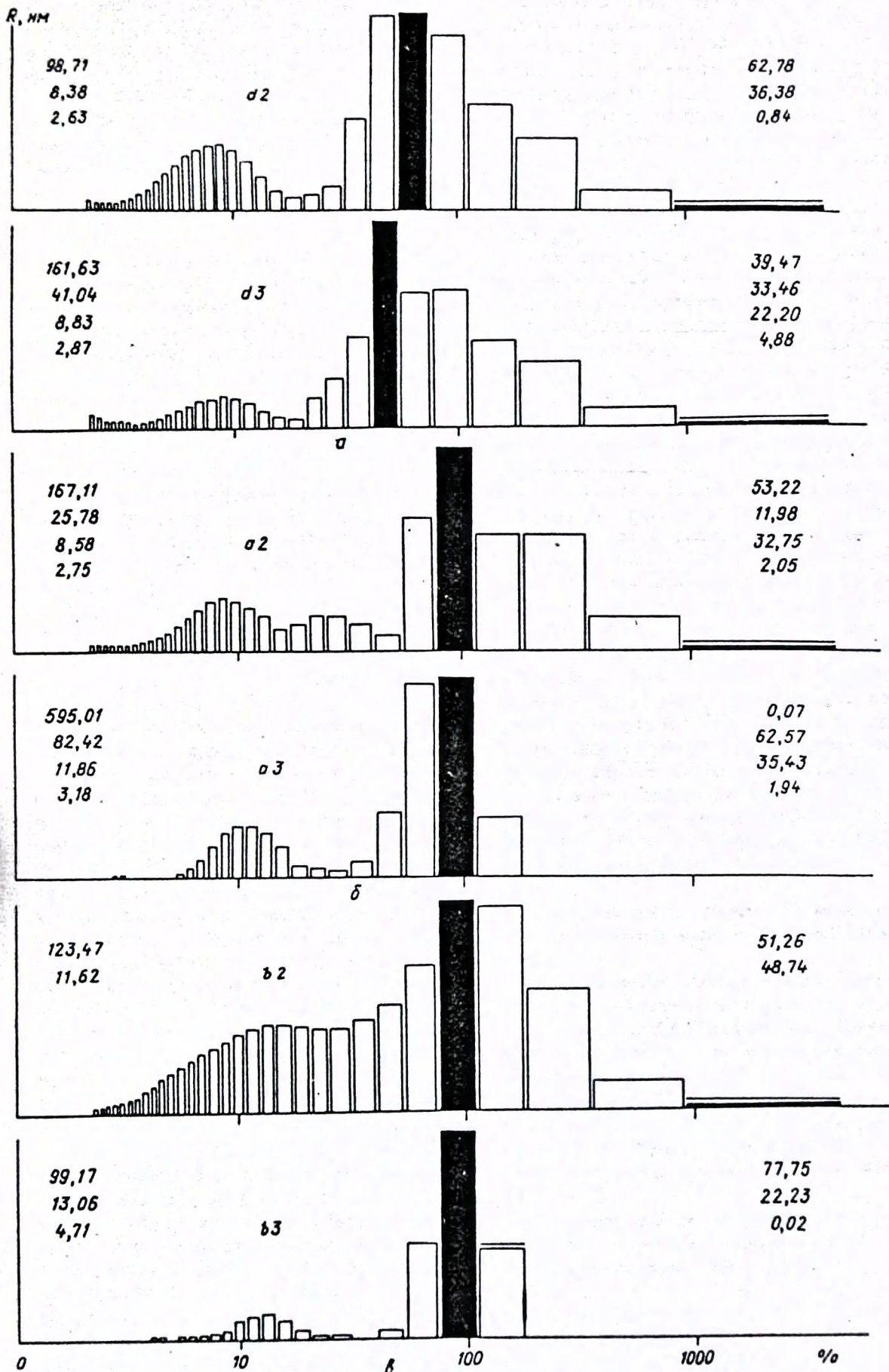


Рис. 5. Суммарные спектры систем гомеостаза больных дифтерией, ангиной после лечения и бактерионосителей после введения сыворотки (а) и перед выпиской из клиники (б)

отражают то, что в популяцию ангин с неидентифицированной природой возбудителей мы включаем некоторое количество больных дифтерией. Косвенным подтверждением этому предположению может служить тот факт, что спектральная характеристика наблюдений больных ангинами, которые попадают в зону перекрытия больных дифтерией, имеет полное сходство с дифтерийными спектрами (рис. 4).

Результаты исследований показали не только возможность дифференциальной диагностики дифтерии и бактерионосительства, но и принципиальную возможность выявления среди ангин с неустановленной природой инфекции тех случаев, которые составляют группу риска по заболеванию дифтерией.

Принципиальный аспект, расширяющий сферу применения ЛКС в клинико-лабораторной практике, заключается в выяснении характера динамических сдвигов, т.е. в корреляционной зависимости параметров ЛКС от динамики патологического процесса.

Характер динамики сдвигов в системе гомеостаза больных дифтерией после курса специфической терапии и перед выпиской показан на рис. 5. Динамика сдвигов явно направлена в сторону восстановления процессов образования иммунных комплексов, о чем свидетельствует нарастание модалного значения высокомолекулярной фракции — от 75 (до лечения) до 100 (после лечения) и 160 нм перед выпиской больного из клиники. Определенная нормализация состава сыворотки крови происходит и среди субфракций частиц размером меньше 20 нм — от 35 до и во время лечения до 26 % перед выпиской. Другими словами, метод ЛКС позволяет идентифицировать многопараметровые сдвиги показателей гомеостаза в процессе лечения, приближающие спектр гистограммы при выписке из клиники к тому, который характерен для лиц контрольной группы. Аналогичная динамика отмечается и в случаях заболеваний ангиной (см. рис. 5). Модалное число высокомолекулярной фракции увеличивается от 96 (до лечения) до 170 (после лечения) и 600 нм перед выпиской. Одновременно снижается количество частиц, размер которых меньше 20 нм — 40 до лечения, 35 после и 36 % перед выпиской. Следует заметить, что результирующий спектр сыворотки перед выпиской из клиники почти достигает уровня спектральной характеристики лиц контрольной группы.

Своеобразная динамика регистрировалась нами после введения сыворотки бактерионосителям. В эту группу вошли пациенты, у которых не было четкой клиники дифтерии, но, учитывая выделение коринебактерии дифтерии, гиперемии зева и увеличение миндалин, врач приемного покоя, принимая во внимание эпидемиологическую обстановку, не мог сразу и полностью исключить диагноз дифтерии и вводил сыворотку. Однако дальнейшее клиническое наблюдение и тщательное обследование позволили отказаться от диагноза дифтерии и расценивать эту ситуацию как бактерионосительство. Сразу после введения сыворотки резко возрастает вклад в светорассеяние фракции, включающей иммуноглобулины — размер частиц 20–40 нм, а перед выпиской спектр гистограммы, характеризующий систему гомеостаза, близок к норме. Исключение составляет умеренная депрессия процессов образования иммунных комплексов (см. рис. 5).

Таким образом, проведенные исследования с использованием ЛКС для диагностики дифтерии, бактерионосительства и ангин неспецифической природы выявили отчетливые изменения в системе гомеостаза. По мере выздоровления отмечались четкие однонаправленные изменения показателей ЛКС в сторону нормы. Возможность быстрого проведения исследования делает метод ЛКС весьма перспективным в дифференциации дифтерии и ангин в ранние сроки заболевания, когда решается вопрос о показаниях к введению противодифтерийной сыворотки.

1. *Философова Т.Г., Мошич П.С., Мельник М.Н. и др.* Дифтерийная инфекция. — Киев: Здоров'я, 1984. — 120 с.

2. *Фаворова Л.А., Астафьева Н.В., Корженкова М.П. и др.* Дифтерия. — М.: Наука, 1988. — 30 с.

3. *Возианова Ж.П., Овчаренко П.А., Матяшина В.М. и др.* Клиника, диагностика дифтерийных миокардитов и принципы их лечения. Метод. рекомендации. — Киев, 1993. — 15 с.

4. *Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В., Носкин В.А.* Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии. — Киев: Наук. думка, 1987. — 200 с.

5. *Балабонов С. М., Лебедев А.Д., Носкин В.А.* Вирусологические аспекты применения ЛКС. — Л.: Ин-т ядерной физики, 1987. — С. 16-19.

С.-Петербург. ин-т ядерной физики РАН, Одес. мед. ун-т им. Н.И. Пирогова

Получено 28.09.94