



Оптимизация диагностики опоясывающего герпеса методом ИК-спектроскопии

М.Т. Мирзоева, М.С. Исаева, Т.Ш. Шукуров

Кафедра дерматовенерологии ТГМУ им. Абуали ибни Сино

В работе представлены результаты диагностики 40 больных с опоясывающим герпесом (ОГ) методом молекулярной ИК-спектроскопии. ИК-спектроскопия в отличие от других известных методов даёт возможность диагностировать все формы ОГ.

В прегерпетической стадии наблюдается смещение частоты максимума ($\nu_{\max}$), появляется полоса в области частот $1600 - 1200 \text{ см}^{-1}$ и происходит перераспределение интенсивности. При буллёзной форме ОГ наблюдается расщепление слабой полосы метильных групп на дублет, а для полос 1640 и 1550 см^{-1} – незначительное изменение соотношения интенсивностей и смещение $\nu_{\max}$ полосы на 65 см^{-1} в низкочастотную сторону. При генерализованной форме наблюдается уменьшение соотношения интенсивностей полос гидроксильных и метильных групп, а также сглаживание очень слабых полос, проявляющихся в области частот $1450 - 1050 \text{ см}^{-1}$. При офтальмогерпесе в ИК-спектрах больных наблюдается незначительное смещение $\nu_{\max}$ и уменьшение соотношения интенсивности полос 3295 и 2910 см^{-1} .

Данный метод является высокоэффективным, так как для регистрации ИК - спектра достаточно одной капли плазмы крови, не требуется дорогостоящих химических реактивов, для регистрации ИК-спектра и установления диагноза необходимо всего лишь 30 мин.

Ключевые слова: опоясывающий герпес, ИК-спектроскопия

Актуальность. До недавнего времени лабораторная диагностика опоясывающего герпеса (ОГ) осуществлялась только в специализированных вирусологических центрах. Появление новых методов исследования привело к расширению возможностей вирусологической диагностики в практическом здравоохранении. Традиционные методы диагностики, в основе которых лежат обнаружение с помощью серологических тестов возбудителя или выявление иммунного ответа на инфекцию, были значительно усовершенствованы и даже заменены новыми [1,2].

В настоящее время существует целый ряд экспресс-методов диагностики, некоторые из них – реакция иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), тонкослойный иммунный анализ (ТИА) – имеют высокую специфичность [2].

Имеются сообщения о результативности многочисленных модификаций радиоиммунного метода (РИМ) [1]. Экспресс-диагностика герпесвирусов может осуществляться также с помощью моноклональных антител [2]. Наибольшей чувствительностью для выявления ДНК герпесвирусов является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3]. Точность, чувствительность, специфичность являются наиболее важными

критериями данных диагностических методов. Но все эти методы трудоёмки, для их выполнения требуются дорогостоящие реактивы и аппаратура.

В последние годы, с развитием научно-технического прогресса, в медицинскую практику внедрены современные методы исследования [4]. Одним из таких методов является молекулярная ИК-спектроскопия, которая широко используется в диагностике различных соматических заболеваний. Данный способ прост в исполнении, экономичен, достоверен, на молекулярном уровне позволяет установить диагноз, контролировать и объективно оценить эффективность проведённой терапии [5].

В то же время в дерматологии имеются лишь единичные работы, посвящённые ИК-спектроскопии для ранней диагностики латентных форм псориаза [6]. Поэтому изучение диагностической значимости ИК-спектроскопии при различных дерматозах является весьма актуальным.

Цель исследования: усовершенствование диагностики опоясывающего герпеса (ОГ) методом молекулярной ИК-спектроскопии.

Материал и методы. Под нашим наблюдением находилось 40 больных с ОГ (основная группа), получавших стационарное и амбулаторное лечение в ГКБ №1 г.Душанбе. Мужчин было 22 (55%), женщин – 18 (45%). Возраст пациентов варьировал от 16 до 76 лет и в среднем составил $58,4 \pm 1,0$ год. По клиническим проявлениям у 5% больных диагностирована прергерпетическая стадия заболевания, у 17,5% – эритематозно-везикулёзная форма, у 30% – геморрагическая, у 12,5% – гангренозная, у 22,5% – буллёзная и у 12,5% – генерализованная. Давность заболевания в среднем составила 16 дней.

С целью инструментальной диагностики нами впервые использован метод молекулярной ИК-спектроскопии. Для этой цели использован стандартный двухлучевой инфракрасный спектрометр "SPECORD – 75 IR" в диапазоне частот 4000-400 см⁻¹. Материалом для исследования служила сыворотка крови. Кровь в количестве 1 мл забирали из локтевой вены, при необходимости центрифугировали.

Для записи ИК-спектров плазмы использован метод получения тонкой плёнки на поверхности оптической пластинки KRS-5.

Контрольную группу составили 15 здоровых лиц в возрасте от 18 до 70 лет, которым проведена ИК-спектроскопия биожидкостей (сыворотка, цельная кровь). ИК-спектры данной группы больных использовались в качестве эталонного спектра (рис.1).

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ ИК-спектров плазмы крови больных с прергерпетической стадией ОГ и их сопоставление со спектром контрольной группы показали существенное их различие. Так, в спектрах больных с ОГ происходит смещение частоты максимума ($\nu_{\max}$), изменения интенсивности и появление новых полос поглощения. В частности, у больных с ОГ вместо полос $\nu_{\max}$ с 840 и 615 см⁻¹, мы наблюдали одну более интенсивную полосу с $\nu_{\max}$ 620 см⁻¹, а полоса 1600 см⁻¹ расщепляется (рис.2).

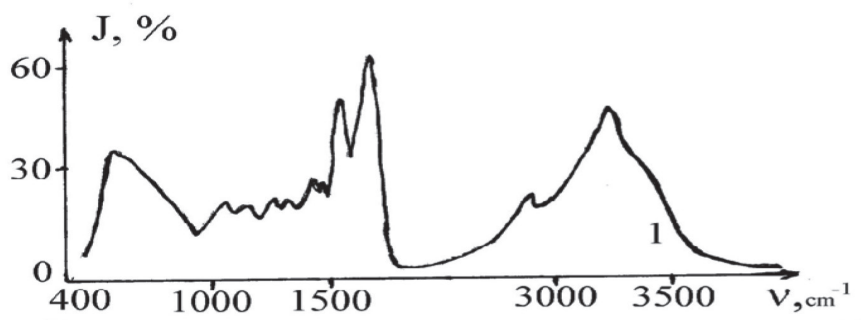


РИС. 1. ИК – СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

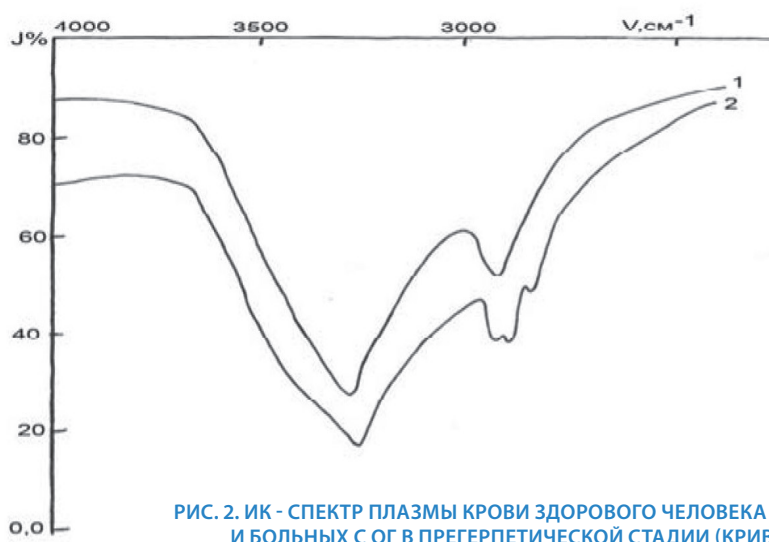


РИС. 2. ИК - СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА (КРИВ. 1) И БОЛЬНЫХ С ОГ В ПРЕГЕРПЕТИЧЕСКОЙ СТАДИИ (КРИВ. 2)



Следует отметить, что эти данные очень важны, так как именно в прегерпетической стадии часто допускаются диагностические ошибки, а метод ИК-спектроскопии позволяет уже на этой стадии дерматоза определить те функциональные изменения, которые происходят в результате нарушения физико-химического состава биожидкостей в организме человека.

Нам было интересно изучить ИК-спектры в зависимости от клинических форм ОГ. Результаты исследования показали, что при буллёзной форме ОГ в спектрах наблюдается смещение $\nu_{\max}$ полосы на 10 см^{-1} в высокочастотную сторону, кроме того происходит расщепление слабой полосы метильных групп (CH_2)

ТАБЛИЦА 1. ПОЛОЖЕНИЯ $\nu_{\max}$ И СООТНОШЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ИК-ПОЛОС ПОГЛОЩЕНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ БУЛЛЁЗНОЙ ФОРМЕ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

Контрольная группа		ОГ буллёзная форма	
$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0	$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0
3290 о. с.	35%	3297 о.с.	23%
2920 сл.		2912 сл.	
1650 о. с.	14%	1640 о.с.	15%
1540 о. с.		1528 о.с.	
1450 о. сл.	3%	1450 о.сл.	1,5%
1398 о. сл.		1395 о.сл.	
1300 о. сл.	1%	1295 о.сл.	- 0,5%
1225 о. сл.		1220 о.сл.	
665 ср.		600 ср.	

Примечание: о.с. – очень сильный, с – сильный, ср. – средний, сл. – слабый, о. сл. – очень слабый

ТАБЛИЦА 2. ПОЛОЖЕНИЯ $\nu_{\max}$ И СООТНОШЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ИК-ПОЛОС ПОГЛОЩЕНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ФОРМЕ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА

Контрольная группа		ОГ, генерализованная форма	
$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0	$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0
3290 о. с.	35%	3280 о.с.	22%
2920 сл.		2910 сл.	
1650 о. с.	14%	1602 о.сл.	-5%
1540 о. с.		1500 о.с.	
1450 о. сл.	3%	сглаживается	-
1398 о. сл.		1370 о. сл.	
1300 о. сл.	1%	сглаживаются	-
1225 о. сл.		1220 о.сл.	

2920 см^{-1} на дублет. Для полос, лежащих в области частот $1800 - 800 \text{ см}^{-1}$, наблюдается незначительное изменение соотношения интенсивностей дублетных полос с $\nu_{\max}$ 1640 и 1550 см^{-1} и смещение $\nu_{\max}$ полосы на 65 см^{-1} – в низкочастотную сторону (табл.1).

При генерализованной форме наблюдается существенное изменение полос, лежащих в области частот $1800 - 1000 \text{ см}^{-1}$, уменьшение соотношения интенсивностей полос 3280 и 2920 см^{-1} , происходит сильное перераспределение интенсивностей дублетных полос с $\nu_{\max}$ 650 и 1540 см^{-1} , с увеличением интенсивности полосы 1540 см^{-1} и смещение $\nu_{\max}$ в сторону низких частот, происходит сглаживание очень слабых полос, проявляющихся в области частот $1450 - 1050 \text{ см}^{-1}$ (табл. 2).

При офтальмогерпесе в ИК-спектрах больных наблюдается незначительное смещение $\nu_{\max}$ и уменьшение соотношения интенсивности полос 3295 и 2910 см^{-1} . Более существенное изменение в ИК-спектрах наблюдается для полос, лежащих в области частот $1800 - 1000 \text{ см}^{-1}$. Происходит полное перераспределение интенсивности полос 1650 и 1540 см^{-1} , сглаживание полосы 1650 см^{-1} , увеличение интенсивности полосы 1540 см^{-1} , а также смещение $\nu_{\max}$ в сторону низких частот. Очень слабые ИК-полосы с $\nu_{\max}$ 1300 и 1225 см^{-1} полностью сглаживаются (табл. 3).

Следовательно, проведённый анализ спектральных характеристик плазмы крови при ОГ позволяет при помощи ИК-спектроскопии диагностировать все формы ОГ, в том числе и прегерпетическую стадию.

Таким образом, ИК-спектроскопический метод исследования, в отличие от известных методов диагностики, даёт возможность диагностировать все формы ОГ. Так, в прегерпетической стадии наблюдается смещение частоты максимума ($\nu_{\max}$), появляется полоса в об-

ТАБЛИЦА 3. ПОЛОЖЕНИЯ $\nu_{\max}$ И СООТНОШЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ИК-ПОЛОС ПОГЛОЩЕНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ОФТАЛЬМОГЕРПЕСЕ

Контрольная группа		Офтальмогерпес	
$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0	$\nu_{\max}, \text{см}^{-1}$	I/I_0
3290 о. с.	35%	3297 о.с.	12%
2920 сл.		2914 сл.	
1650 о. с.	14%	следы	-
1540 о. с.		1510 о.с.	
1450 о. сл.	3%	1446 о.сл.	1%
1398 о. сл.		1396 о.сл.	
1300 о. сл.	1%	сглаживаются	-
1225 о. сл.			



ласти частот $1600 - 1200 \text{ см}^{-1}$ и происходит перераспределение интенсивности. При буллёзной форме ОГ наблюдается расщепление слабой полосы метильных групп на дублет, а для полос 1640 и 1550 см^{-1} – незначительное изменение соотношения интенсивностей и смещение $\nu_{\max}$ полосы на 65 см^{-1} в низкочастотную сторону. При генерализованной форме наблюдается уменьшение соотношения интенсивностей полос ОН – и метильных групп, а также сглаживание очень слабых полос, проявляющихся в области частот $1450-1050 \text{ см}^{-1}$. При офтальмогерпесе в ИК-спектрах больных наблюдается незначительное смещение $\nu_{\max}$ и уменьшение соотношения интенсивности полос 3295 и 2910 см^{-1} . Для полос 1650 и 1540 см^{-1} происходит полное перераспределение интенсивности с увеличением интенсивности полосы 1540 см^{-1} и смещение $\nu_{\max}$ в сторону низких частот, а слабые полосы с $\nu_{\max}$ 1300 и 1225 см^{-1} полностью сглаживаются.

Данный метод является высокоэффективным, так как для регистрации ИК-спектра достаточно одной капли плазмы крови, не требуется дорогостоящих химических реактивов, для регистрации ИК-спектра и установления диагноза необходимо всего лишь 30 мин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макарова И.В. Клинико-лабораторные особенности герпетической инфекции и хронического гепатита С у больных ВИЧ/СПИД: автореф. дис. ... канд. мед.наук / И.В. Макарова. - СПб. - 2011. - 24 с.
2. Петрова Г.А. Диагностика и лечение простого и опоясывающего лишая. Учебное пособие для студентов и врачей / Г.А. Петрова, Л.Т. Павлова. Нижний Новгород. - 2000г. - С. 19-24
3. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В.Демьянов, А.Ю.Демьянов, А.С.Котов // Цитокины и воспаление. - 2003. - Т. 2, №3. - С. 20-35
4. Гомберг М.А. Опоясывающий лишай как дерматологическая проблема / М.А.Гомберг // Вестник дерматологии и венерологии. - 2007. - №5. - С. 18-21
5. Гордеев А.С. Инфракрасная спектроскопия сы-воротки крови / А.С.Гордеев // «МИС-РТ»-2005. Сборник № 36-7
6. Применение ИК-спектроскопии для диагностики псориаза / П.Т.Зоиров, Р.Д.Дадабаев, Т.Ш. Шукуров, З.Н.Сохибова, Г.М.Мухиудинова // ТНИНТИ, патент №ТJ 435 от 2.08.2005

Summary

Optimization of diagnosis of herpes zoster by infrared spectroscopy

M.T. Mirzoeva, M.S. Isayeva, T.Sh. Shukurov

Chair of Dermatology and Venereology of Avicenna TSMU

The results of diagnosis of 40 patients with of herpes zoster (HZ) by the molecular infrared spectroscopy is presented in the paper. The infrared spectroscopy method of investigation in contrast to the known methods of diagnosis offers the ability to diagnose all forms of HZ.

In preherpetic stage is observed shifting of the maximum ($\nu_{\max}$) frequency, appeared band in the frequency of $1600 - 1200 \text{ см}^{-1}$ and take place the redistribution of intensity. In bullosa form of HZ is observed splitting a weak band of methyl groups to the doublet, and for the bands 1640 and 1550 см^{-1} is a slight change in the intensity ratio and the shift $\nu_{\max}$ band to 65 см^{-1} into the low-frequency side. In a generalized form is observed decreasing ratio of the intensities of ОН - and methyl groups, as smoothing a very weak bands which are manifested in the frequency range $1450 - 1050 \text{ см}^{-1}$. In ophthalmoherpis in infrared spectra of patients are observed a slight shift $\nu_{\max}$ and diminishing ratio of the intensity of bands 3295 and 2910 см^{-1} .

This method is highly efficient because for registration of infrared spectrum is enough only one drop of blood plasma, and it does not require expensive chemical agent to register infrared spectrum and diagnosis requires only 30 minutes.

Key words: herpes zoster, infrared spectroscopy

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Мирзоева Мунира Тахировна – аспирант кафедры дерматовенерологии ТГМУ; Таджикистан, г.Душанбе, ул. Фирдавси, 12; E-mail: muniramt@gmail.com