

Ryc. 4. Widma IR melaniny wyizolowanych z oczu krowy: 1 — melanina z naczyńiówki, 2 — melanina z tęczęwki.

że być przyczyną „modyfikacji” struktury melaniny, co przejawia się również w widmie melaniny w podczerwieni. Opisano również pasma alifatycznych grup CH w zakresie 2950–2800 cm^{-1} , które występują w widmach melanin naturalnych. Rzadko można je rejestrować jako silne pasma w widmach IR syntetycznych eumelanin. Oprócz słabo wyróżnionych pasm w zakresie 1700–1600 cm^{-1} Menon⁷ rejestrował słabe pasmo około 700 cm^{-1} . Pasma to można by odnieść do drgań wiązania C–S². Analiza elementarna próbek melanin przedstawiona przez Menona⁷ i danych dotyczących melanin różnego pochodzenia (Menon⁸, Dryja⁹) wskazuje na nieco podwyższony poziom siarki. Jednak badania właściwości fizykochemicznych przeprowadzone dla tych melanin^{7,9} skłaniają ku wnioskowi, że są to melaniny należące do grupy eumelanin.

Analiza widm w podczerwieni melanin wyizolowanych z tęczęwki i naczyńiówki tych samych oczu krowy nie wykazuje istotnych różnic (ryc. 4). W widmie melaniny otrzymanej z naczyńiówki oczu krowy zaobserwowano występowanie słabszego pasma 860 cm^{-1} , pasma w zakresie 1300–1200 cm^{-1} oraz brak pasm pochłaniania: 1230 cm^{-1} i 1310 cm^{-1} w porównaniu z widmem melaniny z tęczęwki. Również te widma charakteryzuje duże podobieństwo do widm IR eumelanin.

Interesujące jest silne pasmo około 1700 cm^{-1} , które w widmach IR syntetycznych eumelanin jest dużo słabsze w porównaniu z pasmem około 1600 cm^{-1} . Analiza parametrów magnetycznych wyznaczonych z widm EPR otrzymanych dla poszczególnych melanin wyizolowanych z tęczęwki, naczyńiówki, ciała rzęskowego i warstwy barwnikowej siatkówki oczu ludzkich o barwie brązowej i niebieskiej wykazała ich podobieństwo do eumelaniny pochodzącej od DOPA⁹.

Przedstawiona analiza widm w podczerwieni melanin wyizolowanych z oczu człowieka, bydłych i świni metodą trawienia w stężonym kwasie solnym skłania ku pogładowi, że otrzymane próbki melanin należą do grupy eumelanin. Indywidualne różnice oraz różnice wynikające z pochodzenia melaniny przejawiające się w prezentowanych widmach IR mogą nakładać się przypuszczalnie na te pochodzące również od innych związków, których nie udało się usunąć w procesie izolacji.

Przypuszczenie o przynależności melanin pochodzących z oczu o niebieskich i brązowych tęczęwkach do grupy eumelanin potwierdzają jedne z ostatnich badań efektów naświetlania promieniowaniem w zakresie UV-VIS oraz badania widm EPR dla melanin pochodzą-

cych z różnych upigmentowanych części gałki ocznej. Autorzy tej pracy jednak podkreślają, że pod względem właściwości fizyko-chemicznych nie są to melaniny dokładnie identyczne.

PIŚMIENNICTWO

- Bilińska B., Cudak B., Wilczok T.: Infrared spectroscopy of natural melanins, Abstracts IIIrd European Workshop on Melanin Pigmentation, Prague, 6, 1981. — 2. Bilińska B., Stepien K., Wilczok T.: Infrared spectroscopy of melanins and melanoproteins. *Studia Biophysica* 12: 47–55 (1987). — 3. Bolt A. C.: Interactions between human melanoprotein and chlorpromazine derivatives. I. Isolation and purification of human melanoprotein from hair, melanoma tissue, *Life Sci.* 5: 1277–1283 (1967). — 4. Bridelli M. G., Capelletti R., Crippa P. R.: Infrared Spectroscopy of Eye and Synthetic Melanins at Various Values of pH and Hydration. *Physiol. Chem. Phys.* 12: 233–240 (1980). — 5. Dryja T. P., O'Neil-Dryja M., Albert D. M.: Elemental analysis of melanins from bovine hair, iris, choroid, and retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 18: 231–236 (1979). — 6. Lvov Yu. M., Krivandin A. V., Fiodorovitsch I. B., Ostrovskij M. A.: Obnaruzhenije pierioditschnosti v strukture melanoproteinovykh granul kletki pigmentnovo epitelia glaza (Rentgenovskoje malugolovoe issledovanij). *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 265: 214–216 (1982). — 7. Menon I. A., Persad S., Haberman H. F., Kurian C. J., Basu P. K.: A qualitative study of the melanins from blue and brown human eyes. *Exp. Eye Res.* 34: 531–537 (1982). — 8. Menon I. A., Persad S., Haberman H. F., Kurian C. J.: A comparative study of the physical and chemical properties of melanins isolated from human black and red hair. *J. Invest. Dermatol.* 80: 202–206 (1983). — 9. Menon I. A., Basu P. K., Persad S., Avaria M., Felix C. C., Kalyamaraman B.: Is there any difference in the photobiological properties of melanins isolated from human blue and brown eyes?. *Br. J. Ophthalmol.* 71: 549–552 (1987). — 10. Mikulski T.: Widma elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) oraz w podczerwieni melaniny oczu i barwnika z substantia nigra. *Acta Physiol. Pol.* 2: 219–224 (1970). — 11. Nicolaus R. A., Piattelli M., Fattorusso E.: The structure of melanins and melanogenesis. *Tetrahedron* 20: 1163–1172 (1964). — 12. Sakina N. L., Dontsov A. E., Ostrovskij M. A.: Anti-oxidative function of melanoprotein granules of the pigmented epithelium in the eye of rabbits. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 17: 421–423 (1981). — 13. Swan G. S.: Structure, Chemistry and Biosynthesis of the Melanins, *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* 31: 521–582 (1974). — 14. Watts K. P., Fairchild R. G., Siatkin D. N., Greenberg D., Packer S., Atkins H. L., Hannon S. J.: Melanin content of hamster tissues, human tissues and various melanomas. *Cancer Res.* 41: 467–472 (1981).

Praca wpłynęła: 9.03.1992 (nr 5805).

WYKAZANO wzrost aktywności proteolitycznej ciała szklistego w przebiegu niektórych stanów patologicznych gałki ocznej. Stwierdzono, że za ten wzrost odpowiedzialne są enzymy z grupy katepsyn¹. Postanowiliśmy sprawdzić, czy płyn podsiatkówkowy pojawiający się w przebiegu samoistnego odwarstwienia siatkówki wykazuje aktywność proteolityczną

MATERIAŁ

Do badań biochemicznych użyto płynów podsiatkówkowych od 40 chorych operowanych z powodu samoistnego odwarstwienia siatkówki w latach 1989–1991. Wiek chorych zamykał się w przedziale od 19 do 78 lat. Dominowali mężczyźni (23 osoby). Czas trwania odwarstwienia przedstawiono w tab. I.

Tabela I

Czas trwania o.s.	n
1 tyg.	5
2 tyg.	12
3 tyg.	3
1 mies.	7
2 mies.	5
3 mies.	5
powyżej 3 mies.	3

U 9 osób stwierdzono krótkowzroczność średnią (2) lub dużą (7), zaś u 6 osób występowała bezszewkowość. U pozostałych 11 stwierdzono emetrię, zaś u 14 nadwzroczność. U 32 osób na obwodzie dna oka występowały zmiany zwyrodnieniowe o typie zwyrodnienia drobnorobielowatego (22), kraciastego (6) i kamieni brukowych (4). U 20 osób odwarstwienie obejmowało 2 kwadranty dna oka, u 9 stwierdzono całkowite odwarstwienie siatkówki (tab. II).

Klasyfikację o.s. w zależności od stadium PVR przedstawiono w tab. III.

Tabela II

Rozległość o.s. w kwadrantach	n
1	4
2	20
3	7
4	9

Tabela III

Stadium PVR	n
A	5
B	14
C	6
1	5
2	7
3	2
D	1
1	1
2	0
3	0

Z Kliniki Okulistycznej, kierownik: prof. dr med. Andrzej Stankiewicz i z Zakładu Biochemii AM w Białymstoku, kierownik: prof. dr med. Edward Bańkowski

Reprint requests to: Dr med. Alina Bakunowicz-Lazarczyk, ul. Mieszka I 1 m. 59; 15-001 Białystok, Poland

ALINA BAKUNOWICZ-LAZARCZYK,
ANDRZEJ STANKIEWICZ, MAŁGORZATA WOLAŃSKA
i KAZIMIERZ WRÓBEL

Aktywność proteolityczna płynu podsiatkówkowego

PROTEOLYTIC ACTIVITY OF THE SUBRETINAL FLUID

Evaluated was the proteolytic activity of the subretinal fluid in idiopathic retinal detachment. The fluid has been taken from 40 patients aged 19–78 years. The proteolytic activity was determined using as a substrate haemoglobin denaturated by urea and was formulated in μM of tyrosine liberated from protein during 4 h of incubation. The subretinal fluid showed the presence of proteases active in the range of pH 2.5–8.5 with an activity peak in pH 3.5–4.5. The proteolytic activity of the enzymes in the subretinal fluid increased from the 3d week of the time of detachment and subsequently diminishes between the 4th and 8th week to remain at the same level above the 8th week. This activity rises proportionally to the extensiveness of the retinal detachment.

HASŁA: aktywność proteolityczna, płyn podsiatkówkowy, odwarstwienie siatkówki

KEY WORDS: proteolytic activity, subretinal fluid, retinal detachment

Chorych operowano w znieczuleniu ogólnym metodą Schepensa z użyciem gałki silikonowej lub wszczepu z silikonu twardego z opaską wokół gałki ocznej. W trakcie operacji starano się całkowicie ewakuować płyn podsiatkówkowy, który poddawano badaniom enzymatycznym. Z badań eliminowano płyn podsiatkówkowy zanieczyszczony krwią.

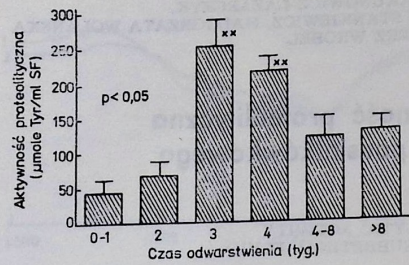
METODA

W celu oznaczenia aktywności proteolitycznej do 0,5 ml hemoglobiny zdenaturowanej mocznikiem dodawano 0,5 ml płynu podsiatkówkowego (oba o odpowiednim pH). Mieszaninę inkubowano w temperaturze 37°C przez 4 h. Reakcję przerywano przez dodanie 2,5 ml 5% kwasu trójchloroctowego (TCA) i w klarownym przesączu oznaczano ilość uwolnionej tyrozyny metodą kolorymetryczną po reakcji z odczynnikiem Folina-Ciocalteu¹.

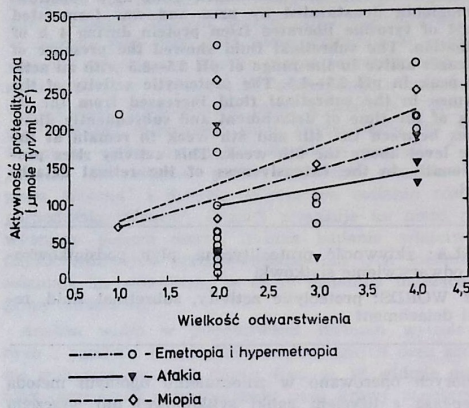
WYNIKI I OMÓWIENIE

W płynie podsiatkówkowym stwierdzono obecność enzymów proteolitycznych działających w zakresie pH 2,5–8,5, przy szczycie aktywności w pH 3,5–4,5.

Przeanalizowano zależność aktywności proteolitycznej od czasu trwania odwarstwienia siatkówki. Stwierdzono, że aktywność proteolityczna w płynie podsiatkówkowym wzrasta do 3 tygodnia trwania odwarstwienia, osiągając najwyższą wartość w 3 tygodniu (ok. 250 μM Tyr/ml), a następnie maleje aż do wartości około 100 μM Tyr/ml między 4 a 8 tygodniem choroby i na tym poziomie utrzymuje się w okresie późniejszym (ryc. 1). Aktywność proteolityczna w płynie podsiatkówkowym wzrasta proporcjonalnie do rozległości odwarstwienia siatkówki (ryc. 2).

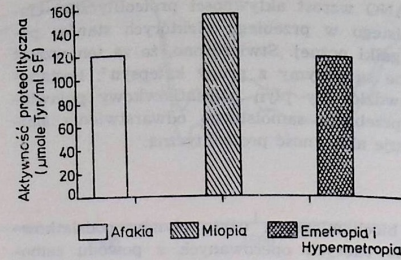


Ryc. 1. Zależność aktywności proteolitycznej płynu podsiatkówkowego od długości trwania odwarstwienia siatkówki.



Ryc. 2. Zależność aktywności proteolitycznej płynu podsiatkówkowego od rozległości odwarstwienia siatkówki.

Porównano aktywność proteolityczną u osób z krótkowzrocznością, bezsoczewkowością, nadwzrocznością i emetropią. Stwierdzono, że krótkowzroczności towarzyszy



Ryc. 3. Zależność aktywności proteolitycznej płynu podsiatkówkowego od wady refrakcji.

wyższą aktywność proteolityczną płynu podsiatkówkowego (ryc. 3). Proteazy płynu podsiatkówkowego mogą uczestniczyć w katabolizmie białek oka.

Według wielu badaczy^{1,4} w galce ocznej stwierdza się obecność katepsyn z największą aktywnością w warstwie barwnikowej siatkówki. Enzymy te, a zwłaszcza katepsyna D, powodują degradację białek zewnętrznych segmentów pręcików i katalizują rozpad rodopsynu na peptydy. Istnieje ścisłe powiązanie między enzymami proteolitycznymi a zmianami patologicznymi takimi jak stany niedokrwienne i dystrofia siatkówkowe.

PIŚMIENNICTWO

1. Cabral L., Unger W.: Regional Distribution of Lysosomal enzymes in the canine retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 31: 670-676 (1990).
2. Wolańska M., Bakunowicz-Lazarczyk A., Bańkowski E.: Proteolytic activity of vitreous humour. *Acta Biochem. Pol.* 38: 119-122 (1991).
3. Worowski K., Roszkowska W.: Rozpuszczalność i podatność na proteolizę natywnej i zdenaturowanej hemoglobiny i kazeiny. *Acta Polon. Pharm.* 36: 721-724 (1979).
4. Yamada T., Hara S., Tamai H.: Immunohistochemical Localization of Cathepsin D in Ocular Tissues. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 31: 1217-1223 (1990).

Praca wpłynęła: 17.01.1992 (nr 5786).

W dobie coraz większej komputeryzacji naszego życia bardzo powszechne staje się stosowanie tego typu badania przy ocenie wady refrakcji. Refraktometr automatyczny znacznie przyspiesza pracę, dając wydruk refrakcji. Wiązka światła wykorzystywana do pomiaru ma długość fali bardzo bliską podczerwieni przez co pacjenci mogą być wygodnie badani w warunkach naturalnych bez dodatkowego oślenia. Ze względu na dużą popularność tego badania, zwłaszcza u dzieci, i obserwowaną przez nas jako okulistów, dużą rozbieżność wyników, postanowiliśmy przeanalizować powyższe dane.

MATERIAŁ I METODYKA

Do porównania wyników pomiarów wady refrakcji uzyskanych za pomocą refraktometru, z metodami tradycyjnymi zakwalifikowano 76 dzieci. Badaniem objęto 35 dzieci z Poradni Leczenia Zeza przy Klinice Chorób Oczu AM w Łodzi oraz 41 dzieci z Poradni Okulistycznej Specjalistycznego ZOZ-u Matki i Dziecka w Łodzi. Analizę przeprowadzono w 3 grupach wiekowych.

U 35 osób wykonano badanie wady refrakcji bez porażenia akomodacji oraz po porażeniu trydniowym zakraplaniem 0,5% Atropiny (2× dz. po 1 kropli). Badanie wykonywano w 4 dniu. U 41 osób badanie przeprowadzono bez porażenia akomodacji i po jej porażeniu 1% Tropicamidem zakraplanym przed badaniem 3× w odstępie 10 minut po 1 kropli. Komputerową ocenę wady refrakcji przeprowadzono za pomocą autorefraktometru japońskiej firmy Nidek typu ARK 2000. Porównawczo wykonywano skiaskopię po cykloplegii oraz w przypadku niezborności, pomiar jej za pomocą oftalmometru Javala-Schiötz. Konkluzją badań było dobranie szkieł okularowych na podstawie otrzymanych wyników. Ocenę komputerową wady refrakcji wykonywała ta sama osoba, podobnie jak badanie skiaskopowe, pomiar niezborności i dobór szkieł okularowych.

WYNIKI

Wiek 76 dzieci objętych badaniem wahał się od 2 do 15 lat. W 1 grupie wiekowej od 2-6 r. znalazło się 45% dzieci, w 2 grupie od 6-9 r. 31% badanych, a powyżej 9 r. 24% badanych. We wszystkich 3 grupach wśród wad refrakcji u 23% pacjentów można było stwierdzić nadwzroczność, w 70% astygmatyzm nadwzroczny, w 3% krótkowzroczność, w 3% astygmatyzm krótkowzroczny i w 1% astygmatyzm mieszany.

Ocenę wyników komputerowych przeprowadzono w 3 przedziałach wiekowych (ryc. 1). W grupie 76 dzieci po porażeniu Atropiną średnia różnica wady refrakcji w obu oczach pomiędzy pomiarem komputerowym bez cykloplegii i po wynosiła w grupie wiekowej 2-6 lat 1,7 D, w grupie od 6-9 r. 1,1 D i w grupie powyżej 9 r. 1,1 D. W grupie dzieci po porażeniu Tropicamidem średnia różnica pomiędzy pomiarem komputerowym bez i po porażeniu wynosiła 1,3 D w grupie od 2-6 r., 0,6 D w grupie od 6-9 lat oraz 0,5 D w grupie powyżej 9 lat.

Z Kliniki Okulistycznej AM w Łodzi, kierownik: prof. dr med. Irena Świątliczko

Reprint requests to: Dr med. Anna Broniarczyk-Loba, ul. Sienkiewicza 59 m. 4; 90-009 Łódź, Poland

ANNA BRONIARCZYK-LOBA, IRENA ŚWIETLICZKO, OLIMPIA NOWAKOWSKA, IZABELLA PAWLAK-ANDRZEJAK i JACEK ŻELEŃSKI

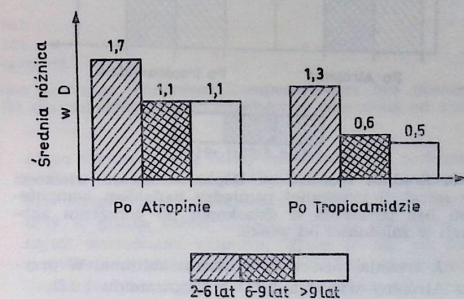
Ocena wyników pomiarów komputerowych wad refrakcji u dzieci

EVALUATION OF RESULTS OF COMPUTERIZED MEASUREMENTS OF ERRORS OF REFRACTION IN CHILDREN

The aim of the study was presentation of the evaluation of refraction errors in children. The errors were determined by means of a refractometer without cycloplegia and after a performed cycloplegia by means of a 0.5% atropine or 1% Tropicamid. These results were compared with examinations carried out by traditional methods such as retinoscopy (skiascopy) and ophthalmometry. The results showed a substantial difference especially in the group of youngest children.

HASŁA: refraktometr, refrakcja oka

KEY WORDS: refractometer, refraction of the eye



Ryc. 1. Średnia różnica (w Dsph) w ocenie wielkości wady refrakcji uzyskanej pomiędzy badaniem komputerowym bez porażenia a badaniem komputerowym po porażeniu akomodacji w zależności od wieku.

Porównanie obu grup testem *t-Studenta* przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$ wykazało, że wyniki po Atropinie są istotnie większe niż po Tropicamidzie (ryc. 2). Najczęściej powtarzającą się wartością w przypadku porażenia Atropiną dla przedziału wiekowego od 2-6 r. była wartość 1,5 D, zaś w przypadku Tropicamidem 1,0 D. Względna miara rozproszenia (współczynnik zmienności V) w grupie dzieci po porażeniu Atropiną wynosił 62%, w grupie po Tropicamidzie 88%.

W następnym etapie prześledzono wyniki pomiaru refrakcji w 3 grupach wiekowych obliczając średnią różnicę w D pomiędzy badaniem komputerowym bez cykloplegii a badaniem skiaskopowym po porażeniu. Średnia różnica pomiędzy pomiarem komputerowym bez porażenia, a skiaskopią wykonaną po Atropinie wynosiła 1,9 D dla grupy wiekowej od 2-6 r. i była wyższa niż średnia różnica (1,6 D) po porażeniu Tropicamidem w tej grupie. Dla grup wiekowych od 6-9 r. i powy-