

В.Н.МИНЕЕВ, Л.Н.СОРОКИНА,  
И.И.НЕСТЕРОВИЧ,  
Н.Н.ЛУКАШЕВСКАЯ,  
В.Н.ЯБЛОНСКАЯ,  
Н.Ю.БУЛАТОВА, Е.А.ШПЕТНАЯ,  
Т.М. ЛАПАЕВА, В.В.ИВАНОВА,  
Ю.Д.РАБИК  
Санкт - Петербургский  
Государственный медицинский  
университет  
им.акад. И.П.Павлова,  
Санкт – Петербург, Россия

УДК 616.24:615.849.19

## КЛЕТОЧНЫЕ И СУБКЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОМОДИФИКАЦИИ В ПУЛЬМОНОЛОГИИ

*“Давно уже стало очевидным, что в конечном счете ключ к решению любой биологической проблемы следует искать именно в клетке, ибо каждый живой организм – это прежде всего клетка или, во всяком случае, был клеткой на каком-то этапе своего развития”.*

Эдмонд Б.Уилсон, 1925год.

Повышение эффективности лечения и профилактики бронхиальной астмы (БА) связывается с необходимостью глубокого знания патогенетических особенностей заболевания. При этом центральным дефектом, составляющим основу патогенеза, является изменение функций клеточного мембранно-рецепторного аппарата (7).

Одним из эффективных подходов в изучении патологических механизмов БА можно считать исследование лазерной фотомодификации эритроцитарных мембран при действии лазерного излучения низкой интенсивности (ЛИНИ). К настоящему времени накоплен большой опыт применения лазеротерапии с использованием ЛИНИ (14,33), в частности, при патологии легких (при острой пневмонии, бронхоэктатической болезни, хроническом бронхите и т.д.) (6) и при аллергических заболеваниях, таких как БА, астматический бронхит, аллергический дерматит, хронический нейродермит с положительным эффектом (15).

Положительный лечебный эффект ЛИНИ при хронических неспецифических заболеваниях легких и при аллергических состояниях (23) связан с изменением активности клеточных мембран, активизацией ядерного аппарата, биосинтетических процессов, увеличением биоэнергетического потенциала клетки. В результате стимуляции клеточных и тканевых биохимических процессов улучшается капиллярный кровоток (12), происходит активация клеток крови (32) и эритроцитов

(9,24,25,34), с повышением деформируемости последних (26) и заметным усилением функциональной активности лимфоцитов, моноцитов и других клеток иммунной системы.

### Влияние ЛИНИ на клеточные механизмы

Исходя из данных литературы, имеющихся экспериментальных наблюдений по действию ЛИНИ, можно выделить следующие эффекты: активация биоэнергетических процессов в митохондриях с повышением синтеза АТФ и системы ДНК-РНК-белок, стимуляция функционирования биоэнергетических ферментов (цитохромоксидазы, дегидрогеназы, каталазы), спектры поглощения которых совпадают с энергетическими спектрами лазерного излучения, воздействие на конформационное строение биополимеров (мембран, липидов, белков) с изменением структуры и функциональной активности макромолекул, образование активных форм кислорода (синглетный) с индукцией окислительных процессов (2).

На фоне увеличения функциональной активности ядерного аппарата повышается митотическая активность клетки, что стимулирует процессы внутри- и внеклеточной физиологической и репаративной регенерации. Кроме того, само лазерное излучение и тканевые продукты его действия оказывают влияние на нервные окончания, опосредуя бронхолитические и муколитические эффекты (23).

Таким образом, ЛИНИ выступает как неспецифический биостимулятор (3) репаративных и обменных процессов в различных тканях, а также, в качестве регулятора иммунной, свертывающей, кроветворной, эндокринной и других систем организма.

Однако возникает вопрос, какова природа биостимулирующего действия лазерного излучения. С одной стороны, можно допустить что ЛИНИ, действуя как повреждающий фактор, вызывает образование высокоактивных частиц ( в частности, синглетный кислород), которые оказываются в свою очередь неспецифическими биостимуляторами. Хотя в таком случае, данный неспецифический эффект должен наблюдаться при работе с лазерными генераторами, излучающими в разных областях спектра. Но литературные данные с достаточной точностью указывают на биостимулирующий эффект только излучения гелий-неонового лазера (ГНЛ). В этой связи некоторые исследователи предлагают рассматривать ГНЛ не как генератор лазерного излучения (поскольку свойства когерентности, монохроматичности, высокой направленности присущи всем спектрам лазерного излучения), а как источник красного света. Предполагается, что биостимулирующей способностью обладает и нелазерное (некогерентное) излучение красной области спектра. К тому же установлено, что красный свет лучше, чем излучение других областей видимого и ультрафиолетового диапазонов спектра, проникает в биологические ткани (3).

### **Влияние ЛИНИ на гуморальные факторы гомеостаза**

Лазерное излучение оказывает эффект на показатели свертывающей системы, характер которого зависит от параметров воздействия. Так, например, проводимая по поводу хронической бронхолегочной патологии лазеротерапия (13) приводила к улучшению клинического течения заболевания и нормализации показателей свертывания крови, независимо от характера выявленных при поступлении в стационар нарушений. После пятнадцатиминутного интраваскулярного облучения крови отмечались следующие эффекты: увеличение времени рекальцификации, толерантности плазмы к гепарину, уровня фибриногена; уменьшение протромбинового индекса; фибринолитической активности крови.

Под влиянием ЛИНИ наблюдается активация неспецифических гуморальных факторов защиты (комплемента, интерферона, лизоцима), общей

лейкоцитарной реакции, повышение фагоцитарной активности (12) макро- и микрофагальной систем (однако при определенной дозе лазерного излучения 2-4 Дж наблюдалось торможение процесса фагоцитоза, что связывают с дезорганизацией клеточных центрисом), возникает десенсибилизирующий эффект, активируется иммунокомпетентная система (гуморальная и клеточная иммунная защита). Согласно исследованиям А.М. Борисовой с соавт. (2) активность иммунокомпетентных клеток изменяется в зависимости от дозы и длительности излучения генерируемого ГНЛ. При облучении в течение 5-10 мин, отмечалось увеличение процентного содержания Т-лимфоцитов. Причем, при действии ГНЛ (4,5) увеличивалось количество Т-хелперов, а при действии гелий-кадмиевого лазера – Т-супрессоров. Через 10 минут облучения определялось снижение уровня иммуноглобулинов А, G, М. Через 30 минут отмечалось уменьшение процентного содержания Т-лимфоцитов и еще большее уменьшение уровня иммуноглобулинов А, G, М.

### **Влияние ЛИНИ на биологические мембраны**

Рассмотрим современные гипотезы относительно мембранных механизмов действия ЛИНИ. На сегодняшний день установлено, что результаты воздействия ЛИНИ оказываются наиболее резко выражены на границах раздела между различными средами, так как именно там создаются условия для протекания биохимических, физиологических и физико-химических реакций. Такой границей на клеточном уровне, как известно, является биологическая мембрана: как цитоплазматическая (более изучена), так и внутриклеточные мембранные структуры (митохондрии, ядерная мембрана, эндоплазматическая сеть, лизосомы) (1). Взаимодействие лазерного излучения и биомембраны определяется, во-первых, свойствами самой мембраны (27) и входящих в ее состав компонентов: теплоемкостью, теплопроводностью, механической прочностью, отражающей и поглощающей способностью, текучестью (19), адгезивностью(11), деформируемостью (26) и, во-вторых, физическими параметрами лазерного излучения: длиной волны, мощностью, длительностью экспозиции, интенсивностью, степенью когерентности.

Структурный анализ электронных фотограмм (21) показал, что реакция различных типов клеток на лазерное излучение не одинакова. Наибольшим изменениям подвержены активно функционирующие клетки и клеточные структуры: эндотелиоци-

ты, фибробласты, базальные клетки эпителия, нервные окончания, клетки иммунной системы. Возрастание концентрации возбужденных молекул кислорода (синглетный, гидроксильные ионы и т.д.) индуцирует образование свободных радикалов, которые могут вызывать видимые в электронном микроскопе характерные изменения поверхностной ультраструктуры цитоплазматической мембраны (9). Лазерное облучение приводит к выраженной вакуолизации цитоплазмы, расширению либо уплотнению ядерной мембраны, сокращению поверхности цитоплазматической мембраны, к образованию ею пальцевидных выпячиваний (21).

Изменение состояния цитомембраны (3) объясняют опосредованным действием мембраносвязывающего светоакцептора порфиринового типа (10), что сопровождается активизацией клеток и выходом из них ростстимулирующего ДНК-фактора. Происходит активация биосинтетических процессов, с повышением образования белков и, в частности, ферментов. Кроме этого, ЛИНИ оказывает стимулирующее действие на биоэнергетические ферменты (дегидрогеназа, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза и др.), спектры поглощения которых совпадают с энергетическим спектром лазерного излучения, и, следовательно, повышает активность антиоксидантной системы (8).

### **Влияние ЛИНИ на перекисную резистентность эритроцитов**

Мы проанализировали результаты обследования 29 больных бронхиальной астмой, наблюдавшихся в клинике госпитальной терапии им. акад. М.В.Черноруцкого СПбГМУ им.акад. И.П.Павлова. В качестве контрольной группы обследовано 21 практически здоровых лиц. Всем больным проводилось комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование,

Методологической основой разработанного нами комплекса методов служит оценка эритроцитарной резистентности по отношению к неспецифическим триггерам на примере перекисного воздействия исходно и в условиях модулирующего влияния адреноагонистов (адреналин) и антагонистов (обзидан), а также гистаминоагонистов (гистамин) и антагонистов H1-гистаминовых рецепторов (димедрол) и H2-гистаминовых рецепторов (гистодил) до и после воздействия ЛИНИ. С целью оценки перекисной резистентности эритроцитов был использован метод Покровского А.А., Абрамова А.А в модификации Минеева В.Н., Нестеро-

вич И.И.(16,17). Воздействие проводилось с помощью гелий-неонового лазера (ГНЛ) ЛГ-78 с длиной волны 0,633 мкм, излучающего в красной области спектра на модели перекисного гемолиза.

Известно, что у больных БА заметно усилено перекисное окисление липидов, а активность ферментов антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) снижена (22,28,29,30). При этом установлено, что ЛИНИ стимулирует антиоксидантную систему и в значительно меньшей степени перекисное окисление липидов (ПОЛ) (18,20). Предполагается, что излучение ГНЛ снижает микровязкость биомембран и препятствует повреждению их вследствие ПОЛ. Отмеченный мембраностабилизирующий эффект ЛИНИ имеет положительную корреляцию с индукцией Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> АТФ-азы, с изменением проницаемости мембран и ускорением синтеза АТФ.

Нами выявлены некоторые особенности резистентности эритроцитов по отношению к перекисному воздействию в условиях действия ЛИНИ в зависимости от клинико-патогенетического варианта БА.

Атопический клинико-патогенетический вариант бронхиальной астмы характеризуется исходно повышенной резистентностью по отношению к перекисному воздействию, а инфекционно-зависимый, напротив, пониженной резистентностью. После воздействия ЛИНИ при АБА отмечается снижение, а при ИЗБА – повышение перекисной резистентности эритроцитов.

При исследовании резистентности эритроцитов к перекисному воздействию при модуляции адренергическими агентами при АБА выявлена тенденция к нарастанию перекисного гемолиза, а при ИЗБА – достоверное снижение гемолиза. Однако при анализе динамики индекса К (учитывает баланс соотношений между эффектами адреналина и обзидана и рассчитывается как отношение процента гемолизированных эритроцитов в присутствии адреналина к проценту гемолизированных эритроцитов в присутствии адреналина и обзидана) при ИЗБА вероятный сдвиг в сторону адренорецепторный дисбаланс у этой группы больных. Изменение данного индекса при АБА после лазерного облучения позволяет думать о стабилизирующем эффекте при этом клинико-патогенетическом варианте.

При исследовании перекисной резистентности эритроцитов в условиях гистаминергической системы после лазерной фотомодификации в присут-

ствии гистамина выявлено дальнейшее торможение гемолиза, что подтверждает роль данного медиатора как эндогенного протектора при свободнорадикальном повреждении ткани.

При оценке коэффициента **H1/H2**, который рассчитывается как отношение H1-эффекта (в условиях H2-блокады) к H2-эффекту (в условиях H1-блокады), обнаружен сдвиг соотношения H1/H2-гистаминергической активности в сторону H1-активности после воздействия ЛИНИ при ИЗБА. Снижение H1-активности после фотомодификации при АБА отображает нормализующий эффект лазерного излучения в этом случае.

В заключение необходимо отметить, что наиболее общим эффектом, который особенно четко выявляется при исследовании мембрано-рецепторных процессов является, по-видимому, тренирующий эффект ЛИНИ, что позволяет считать этот метод воздействия на больной организм универсальным лечебным подходом, связанным с модификацией перекисного окисления липидов.

*Работа по исследованию лазерной фотомодификации мембран эритроцитов при бронхиальной астме поддержана грантом Правительства Санкт-Петербурга.*

#### Литература

1. Биологические мембраны. Методы: Перевод с англ. / Под ред. Дж. Б. Финдлея, Ц. Г. Эванза.- М.: Мир, 1990.- 424с.
2. Борисова А.М., Хорошилова Н.В., Булгакова Г.И. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на иммунную систему // Тер. архив.- 1992.- Т.64.- № 5.- С.111- 116.
3. Гамалея Н.Ф. Световое облучение крови – фундаментальная сторона проблемы.// Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на кровь.- Киев, 1989.- С.180- 183.
4. Горяйнов И.И. Иммуномодулирующее действие магнитно-лазерного облучения в норме и при некоторых видах экспериментальной патологии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- Курск, 1994.- 20с.
5. Горяйнов И.И., Князева Л.А., Князева Л.И. и др. Иммуномодулирующее действие эритроцитов после магнитно-лазерного облучения // Вестник новых медицинских технологий.- 1996.- Т.3.- №1.- С.34- 36.
6. Дзюбик А.Я., Скопиченко В.Н. и др. Эффективность внутрисосудистого лазерного облучения крови в лечении больных хроническим обструктивным бронхитом.// Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на кровь - Киев, 1989.- С.82- 84.
7. Жихарев С.С., Минеев В.Н., Лукашевская Н.Н. Мембранно-рецепторные нарушения в патогенезе бронхиальной астмы // Тер.архив.- 1991.- № 3.- С.81- 85.
8. Жуманкулов М.С., Шабуневич Л.В., Басиладзе Л.И. и др. Фотоактивация церулоплазмينا как один из механизмов действия гелий-неонового лазера на кровь // Лазеры и медицина.- Ташкент, 1989.- Ч.1.- С.73- 74.
9. Иванов А.В., Купин В.И., Еремеев Б.В. Обратимые повреждения плазматических мембран форменных элементов крови – начальное звено стимуляции, вызываемой лазерным излучением.// Влияние лазерного излучения на кровь.- Киев, 1989.- С.185- 187.
10. Иржак Л.И., Зотова Е.А., Мамаева С.А. Изменение физико-химических и функциональных свойств гемоглобина человека под влиянием лазерного облучения in vitro. // Бюлл.эксп.биол. и мед.- 1993. - № 6.- С.622- 623.
11. Кару Т.Й., Пятибрат Л.В. Влияние излучения гелий-неонового лазера на адгезивные свойства клеточной мембраны. // Бюлл.эксп.биол. и мед.- 1997.- Т.123.- № 4.- С.395- 398.
12. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О. и др. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на функциональный потенциал лейкоцитов // Бюлл.экспер.биол. и мед.- 1997.- Т.123.- № 4.- С.395- 397.
13. Клодченко Н.Н. Влияние гелий-неонового лазера на свертывающую систему крови больных острой пневмонией // Влияние лазерного излучения на кровь - Киев, 1989.-С.100- 102.
14. Корочкин И.М. Применение низкоэнергетических лазеров в клинике внутренних болезней // Российский мед. журнал - 1997.- № 5.- С.4- 10.
15. Кулага В.В., Шварева Т.И. Лазеротерапия аллергических васкулитов кожи. // Влияние лазерного излучения на кровь - Киев, 1989.-С.114-115.
16. Минеев В.Н. Патогенетические и клинические аспекты нарушений мембранно-рецепторного комплекса эритроцитов при бронхиальной астме: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук.- СПб.,1993.- 32с.
17. Нестерович И.И. Характеристика резистентности эритроцитарных мембран при бронхиальной астме: Автореф. дисс. ...канд. мед. наук.- СПб.,1997.- 23с.
18. Никитин А.В., Карпухина Е.П. Влияние эндоваскулярной лазеротерапии на клиническое течение и механизмы антиоксидантной защиты у больных бронхиальной астмой // Тер.архив.- 1992.- № 1.- С.62- 64.

19. Палеев Н.Р., Карандашов В.И., Петухов Е.Б. Изменение текучести крови у больных с инфекционно-аллергической формой бронхиальной астмы при проведении фототерапии с помощью низкоэнергетического гелий-неонового лазера.// Бюлл.экспер.биол. и мед.-1996.- Т.122.- №11.- С.564- 567.
20. Петров В.К., Воронков И.Ф. Влияние излучения гелий-неонового лазера на кровь донора // Актуальные проблемы лазерной медицины: Сборник научных трудов. – Рязань, 1993.
21. Полосухин В.В., Егунова С.М., Чувакин С.Г. Морфогенетические эффекты применения лазерного излучения в лечении острого и хронического воспаления бронхов – Новосибирск: Наука, 1993 – 155с.
22. Приходько В.Б., Лалаян В.А. и др. Использование излучения гелий-неонового лазера для коррекции некоторых нарушений липидного обмена у больных бронхиальной астмой // 7 Национальный конгресс по болезням органов дыхания: Сборник резюме.- М., 1997.- С.32.
23. Сильвестров В.П., Провоторов В.М., Чесноков П.Е. Клинико-патогенетическое обоснование и эффективность применения низкоэнергетического лазерного облучения и глюкокортикоидов при лечении больных бронхиальной астмой.// Тер.архив.- 1991.- № 11.- С.87-91.
24. Сипливая Л.Е. Влияние ингибиторов протеаз на индукцию ультрафиолетовым облучением иммуностимулирующей активности аллогенных эритроцитов.// Тез. докл. конференции “Актуальные вопросы фармацевтической науки.- Курск, 1991.- № 9.- С.36- 38.
25. Сипливая Л.Е. Модифицированные эритроциты как иммуномодуляторы в норме и патологии: Автореф. дисс... д-ра мед. наук.- М., 1992.- 44с.
26. Слинченко О.И., Александрова Н.П. и др. Влияние экстракорпорального гелий-неонового лазерного облучения крови на морфофункциональное состояние эритроцитов // Бюлл.экспер.биол. и мед.- 1997.- Т.123.- № 3.- С.338- 340.
27. Соловьев А.А., Федорова Е.Л. Влияние лазерного облучения на мембранные системы клеток // Реактивность и пластичность органов и тканей в патологии и эксперименте.- Нижний Новгород, 1991.- С.78- 81.
28. Субботина Т.Ф. О роли перекисного окисления липидов и адренергического дисбаланса в патогенезе бронхиальной астмы.- В кн.: Новое в этиологии, патогенезе, клинике, лечении и профилактике бронхиальной астмы / Под ред.Г.Б.Федосеева.- Л., 1985.- С.62- 64.
29. Субботина Т.Ф. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе бронхиальной астмы: Автореф.дисс ...канд.мед.наук.- Л.,1986.
30. Сыромятникова Н.В. состояние системы “ПОЛ-антиоксиданты” у больных бронхиальной астмой.- В кн.: Бронхиальная астма / Под ред.Г.Б.Федосеева - СПб., 1996.- С.97- 100.
31. Funk J.O., Kruse A., Neustok P., Kirchner H. Helium-neon laser irradiation induces effects on cytokine production at the protein and the mRNA level.// Experimental Dermatologi.- 1993.- Mar.- P.75-83.
32. Ohshiro T., Galderhead K.G. Low-level laser therapy: a practical introduction.- New York: Plenum Press, 1986.
- Ward T., Rollan A., Flynn G., McHale AP. The effects of electric fields on photosensitized erythrocytes: possible enhancement of photodynamic activation.// Cancer Letters.- 1996.- V.106.- № 1.- Aug.23.- P.69- 74.