

Саногенное влияние внешнего лазерного излучения на процесс заживления экспериментальной кожной раны у крыс

Белопольский А.А., Савина Г.Д.

Научная группа кафедры общей патологии и патофизиологии ГБОУ ДПО РМАПО; зав. кафедрой академик РАМН, профессор А.А. Кубатиев

Установлено, что однократное облучение раневой поверхности кожи крыс с помощью низкоинтенсивного (2,5 мВт ($3,75 \cdot 10^{-2}$ Дж за 15 с) инфракрасного лазера «Скаляр» на 2-е сутки эксперимента приводит к ускорению заживления кожно-мышечной раны, более ранней нормализации гематологических и биохимических показателей гомеостаза и более выраженной активации факторов врожденного иммунитета (фагоцитов крови, лизоцима и Р-белков). Показано, что саногенные механизмы могут иметь общие эволюционные основы с патогенетическими реакциями, поэтому их взаимодействие в восстановительных процессах может проявляться линейно и взаимообусловленно.

Ключевые слова: инфракрасный лазер, заживление раны, саногенез

Введение

Понятие «саногенез», предложенное в середине 60-х годов прошлого века профессором кафедры патофизиологии I ММИ С.М. Павленко, было неоднозначно воспринято медицинской общественностью. Однако время показало правоту автора. Действительно, трудно представить, что процесс выздоровления зависит только от степени выраженности патогенетических механизмов, либо их трансформации в полную противоположность, или спонтанного исчезновения.

Большое значение для понимания процессов излечения имело развитие концепции восстановительной медицины [6], основанной на разработке принципов сохранения и восстановления «функционального резерва организма». Уровень последнего зависит от исходного состояния и может регулироваться при использовании системы природных и преформированных физико-химических факторов, действие которых направлено именно на стимулирование различных саногенетических механизмов, хотя сам термин «саногенез» во многих работах, посвященных тематике восстановительных технологий лечения, не используется.

Так, применительно к вопросам иммунитета в настоящее время подробно описано два состояния резистентности организма [9]: так называемый врожденный или естественный иммунитет и приобретенный или адаптивный. Ключевым моментом запуска защитно-приспособительных иммунных реакций в любом случае является фагоцитарная реакция специализированных клеток организма. Представители фагоцитирующих клеток — это прежде всего клетки миелоидного происхождения (полинуклеарные нейтрофильные лейкоциты крови, моноциты и тканевые макрофаги, дендритные клетки, базофилы и тучные клетки). В то же время давно известно (И.И. Мечников, 1882), что фагоцитоз является двойственной реакцией организма: как собственно защитной иммунной реакцией, так и промотером типового патологического процесса — воспаления. В настоящее время достаточно детально исследовано, как, благодаря взаимодействию в сетевых процессах различных цитокинов, селективных, интегринов, хемокинов,

биогенных аминов, белков «острой фазы» и многих других активных соединений, развивается этот патологический процесс. Воспаление, как типовой патогенетически обусловленный комплекс деструктивных и восстановительных реакций, одновременно может рассматриваться (частично) и как саногенетический процесс.

Целью настоящего исследования было изучение изменений функционирования защитно-компенсаторных противоинфекционных механизмов врожденной резистентности при воздействии энергии лазера на организм животных, когда эта система защиты исходно находится в состоянии функционального равновесия. В связи с этим мы поставили задачу исследовать ресурс защитно-компенсаторных реакций организма крыс при воспроизведении у них экспериментальной гнойной раны и последующего лечения низкоинтенсивным лазерным излучением.

Материал и методы исследования

Опыты проводились на 135 нелинейных крысах-самцах массой около 200 г. Моделирование раневого процесса осуществлялось путем нанесения стандартной травмы в области спины крыс на уровне T₁ — T₄ методом выкраивания циркулярного кожного лоскута площадью 300 мм² с последующим раздавливанием подлежащего мышечно-го массива зажимом Кохера.

Лазерное воздействие выполнялось низкоэнергетическим ИК лазерным излучением, генерируемым аппаратом «Скаляр 1/40» в непрерывном режиме. Лучом лазера раневую поверхность на 2-е сутки обрабатывали однократно. Мощность излучения составляла 2,5 мВт ($3,75 \cdot 10^{-2}$ Дж за 15 с), являясь оптимально терапевтической, как было установлено ранее.

Клиническая оценка раневого процесса осуществлялась путем наблюдения за поведением животных, визуальной оценкой картины раневого процесса (характера содержимого в отделяемом материале — гноя, фибрина, наличия грануляций, некрозов, состояния краев раны). Планиметрическим методом рассчитывали динамику заживления раны.

Для оценки гуморального звена врожденного иммунитета изучали ферментативную активность лизоцима крови [2, 8]. Состояние клеточного иммунитета оценивали по выраженности фагоцитарной активности полинуклеаров крови в отношении тест-микроба *Staphylococcus aureus*, штамм 209P [3], и НСТ-тесту [1], количеству R-белков крови иммунохимически [4]. Биохимические показатели гомеостаза оценивали с помощью стандартных методик [5].

Полученные результаты и их обсуждение

Динамика изменений гормонально-метаболического статуса у травмированных крыс характеризуется следующим. Нанесение раны у животных контрольной группы (без облучения) сопровождается незначительным увеличением уровня кортизола и инсулина в первые сутки наблюдения. Одновременно отмечается снижение содержания триглицеридов крови, увеличение концентрации глюкозы при неизменном количестве холестерина и альбумина. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) несколько возрастает. Отмечается тенденция к повышению активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и увеличению креатинфосфокиназы (КФК). Эти изменения отражают развитие стрессовой реакции организма, сопровождающейся тенденцией к активации анаэробного гликолиза. Отличительной чертой в изменениях вышеперечисленных показателей у животных опытной группы, раневая поверхность тела которых была облучена лазером, является отсутствие увеличения уровня кортизола, снижение содержания инсулина на 50%, тенденция к гипогликемии и уменьшение количества триглицеридов. На этом фоне отсутствуют изменения активности ферментов и ПОЛ. Разница в уменьшении площади раневой поверхности у опытных крыс по сравнению с контролем в динамике эксперимента составляет 10%.

Таким образом, лазерное облучение раны в указанной дозе предотвращает развитие анаэробного гликолиза, способствует развитию более активных липолитических процессов, уменьшению активности ПОЛ и усиливает как энергетические, так и пластические процессы.

Изменение гематологических показателей выражается в следующем. В контрольной группе животных определяется повышение числа лейкоцитов с 6-х суток: к 15-м суткам — на 22,1% в сравнении с этим показателем у интактных

крыс ($P > 0,05$). В опытной группе увеличение числа лейкоцитов на 6 сутки (на 34,7%) также не является статистически значимым. Оно сохраняется повышенным до конца наблюдения в среднем на 25% в сравнении с показателем у контрольных крыс. В обеих изученных группах не наблюдаются существенные изменения показателей красной крови (гемоглобин, число эритроцитов, гематокрит).

Таким образом, динамика числа лейкоцитов обусловлена развитием воспалительного процесса в области раны, и она существенно не отличается в обеих группах.

Показатели фагоцитоза у животных с раной являются типичными для травматического повреждения ткани (табл. 1). Они характеризуются проявлением фазы угнетения в начальном периоде воспаления (1-е сутки), что выражается в значительном уменьшении относительного количества полинуклеаров ($с 60 \pm 10\%$ у интактных крыс до $44 \pm 2\%$; $P < 0,05$ спустя сутки). В период с 6 по 8 сутки наблюдения количество активно фагоцитирующих клеток возрастает до нормального значения и остается таковым до конца опыта. Лазерное облучение раны отменяет реакцию депрессии фагоцитарной активности и количество фагов достигает $72 \pm 9\%$. Однако в дальнейшем отличия между показателями фагоцитарной активности в двух группах сравнения не выявляются. Можно утверждать, что под влиянием лазерного облучения раны происходит экстенсификация фагоцитарной активности полинуклеаров. После нанесения раны у крыс контрольной группы отмечается пик усиления поглотительной способности фагоцитами тест-микроба на 4-е сутки наблюдения с $2,0 \pm 0,6$ в контроле до $7,9 \pm 2,1$ ($P < 0,05$) с нормализацией этого показателя к 15 суткам наблюдения, т.е. регистрируется интенсификация процесса. В отличие от этого у животных с облучением лазером раневой поверхности значительное усиление поглощения тест-микроба наблюдается практически во все сроки проведения эксперимента, особенно выраженное на 1-е и 6-е сутки (до $6,5 \pm 1,9$ и $7,7 \pm 0,6$ соответственно; $P < 0,05$).

Эффективность фагоцитоза, оцениваемая по его завершенности, у животных с раной резко подавляется в первую неделю после нанесения травмы, а в более отдаленные сроки она нормализуется. При воздействии лазера на рану индекс завершенности фагоцитоза удерживается в пределах нормы, а в более отдаленные сроки имеет тенденцию к снижению.

Таблица 1

Динамика факторов клеточной неспецифической резистентности у крыс с раной кожи

Срок исследования	Исследуемые показатели							
	% фагоцитирующих полинуклеаров		Среднее число поглощенных фагами кокков		% НСТ-положительных полинуклеаров		Цитохимический коэффициент	
	Рана без облучения	Лазерная активация раны	Рана без облучения	Лазерная активация раны	Рана без облучения	Лазерная активация раны	Рана без облучения	Лазерная активация раны
Интактные крысы	60 ± 10		2,0 ± 0,6		4 ± 4		0,28 ± 0,14	
1-е сутки	44 ± 2*	72 ± 9	2,2 ± 0,7	6,5 ± 1,9*	0	0	0	0
4-е сутки	64 ± 7	60 ± 5	7,9 ± 2,1*	2,6 ± 0,3	6 ± 6	2 ± 1,3	0,06 ± 0,06	0,06 ± 0,06
6-е сутки	70 ± 8	68 ± 2	3,5 ± 0,7	7,7 ± 0,6*	18 ± 4*	14 ± 12*	0,22 ± 0,02	0,20 ± 0,20
8-е сутки	64 ± 7	70 ± 3	3,1 ± 0,3	6,1 ± 1,5*	10 ± 3	6 ± 4	0,12 ± 0,04	0,08 ± 0,06
15-е сутки	58 ± 10	46 ± 10	2,0 ± 0,5	3,2 ± 0,8	30 ± 7*	0	0,50 ± 0,09*	0

Примечание. Здесь и в табл. 2 * — $P < 0,05$ по отношению к интактным животным

Состояние факторов гуморальной неспецифической резистентности у крыс с раной кожи

Срок исследования	Исследуемые показатели			
	Активность лизоцима (мкг/мл)		Титр R-белков в крови	
	Рана без облучения	Лазерная активация раны	Рана без облучения	Лазерная активация раны
Интактные крысы	2,86 ± 0,40		1 : 2800	
1-е сутки	1,92 ± 0,62	2,22 ± 0,76	1 : 6400	1 : 4400
4-е сутки	2,70 ± 0,56	2,52 ± 0,57	1 : 4400	1 : 9000*
6-е сутки	2,76 ± 0,23	3,48 ± 0,27	1 : 6400	1 : 22000*
8-е сутки	1,66 ± 0,57	2,47 ± 0,54	1 : 2800	1 : 9400*
15-е сутки	2,82 ± 0,84	2,27 ± 0,65	1 : 3000	1 : 4000

Интенсивность НСТ-теста у животных сравниваемых групп различная. Выраженность так называемого «кислородного взрыва» у травмированных животных, рана которых облучалась лазером, намного ниже, чем в контроле, что, по всей видимости, отражает нецелесообразность интенсификации завершающих механизмов антимикробной защиты. Это подтверждает и расчет цитохимического коэффициента, отражающего различное количество восстановленного тетразолия в цитоплазме фагов обеих групп.

Направленность показателей факторов гуморальной неспецифической защиты (ФГНЗ) (табл. 2) при раневом процессе имеет следующие особенности: через сутки в контроле наблюдается снижение активности лизоцима с $2,86 \pm 0,40$ до $1,92 \pm 0,62$ мкг/мл ($P > 0,05$), которая восстанавливается до нормы к четвертым суткам, после чего происходит повторное снижение активности (восьмые сутки) с дальнейшим восстановлением показателей лизоцима на 15-й день после нанесения травмы. Однако данное явление не имеет выраженного характера, что по-видимому, объясняется адекватностью степени повреждения. При воздействии лазером на рану динамическая кривая показателей лизоцима показывает сходный характер, за исключением шестых суток, когда наблюдается тенденция активации данного показателя до значения $3,48 \pm 0,27$ ($P > 0,05$), несколько превышающую нормальный уровень.

Динамика показателя R-белков у животных с раной без облучения с 1-е по 6-е сутки эксперимента превышает нормальный уровень, а с 8-х суток их титр нормализуется. При воздействии лазером на рану наблюдается возрастание титра R-белков с пиком на 4—6-е сутки наблюдения (до 1 : 9000 и 1 : 22000 соответственно, $P < 0,05$). Эти данные указывают на активацию гуморального звена иммунитета, связанного с продукцией идиотипических иммуноглобулинов. К концу опыта титр R-белков у животных обеих групп приближается к нормальному значению.

Анализ полученных данных позволяет заключить, что степень выраженности изменений факторов противовоспалительной неспецифической защиты у животных с раной без облучения адекватна степени повреждения, поэтому данная модель травмы является корректной для исследования терапевтических возможностей НИЛИ. Показано, что лазерное облучение раневой поверхности, проведенное в этих условиях на 2-е сутки после иссечения кожи, оказывает противовоспалительное и в некоторой степени корректирующее влияние на характер биохимических и энергетических процессов, отражающих пластические и адаптационные процессы, направленные на ускорение сроков заживления раны. Комплексная реакция активизации факторов системы гуморальной и клеточной неспецифической

противоинфекционной защиты, включая динамику R-белков, свидетельствует о возможности использования при выбранных режимах и сроках воздействия энергии ИК-низкоэнергетического лазера в терапевтических целях, способствуя усилению регенеративных реакций организма и повышая его общую резистентность.

Можно полагать, что оптимальные с физиотерапевтической точки зрения дозы воздействия лазерного ИК-излучения модифицирует функциональную активность отдельных систем организма. Это находит отражение в предотвращении развития анаэробного гликолиза, интенсификации липолитических процессов, уменьшении активности ПОЛ, усилении энергетическо-пластических процессов, уменьшении депрессии фагоцитарной способности полинуклеарных лейкоцитов крови, активации лизоцима и R-белков в динамике заживления кожно-мышечной раны, облученной лазером.

Выделение из сложного комплекса ответных реакций организма на экстремальные воздействия биологически адекватных и целесообразных реакций адаптации и их амплификация природными или преформированными физико-химическими факторами является основой важного направления в общей патологии — саногенеза. Полагаем, что такой выбор патогенетически обоснованной терапии может способствовать оптимальной экспрессии эволюционно выработанных защитно-приспособительных (саногенетических) реакций.

Список литературы

1. Войткевич К.А. Методика определения НСТ активности лейкоцитов периферической крови человека // Лаб. дело. — 1977. — №3. — С. 147—148.
2. Каграманова К.А. Активные концепции развития в биологических жидкостях и тканях // Лаб. дело. — 1968. — №6. — С. 23—25.
3. Кост Е.А. (ред.). Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. — М.: Медицина, 1975. — С. 56—57.
4. Кульберг А.Я. Антииммуноглобулины. — М.: Медицина, 1978. — 183 с.
5. Меньшиков В.В. (ред.) Лабораторные методы исследования в клинике. (Справочник). — М.: Медицина, 1987. — 365 с.
6. Разумов А.Н. Перспективные концепции развития восстановительной и курортной медицины // Современные технологии восстановительной медицины: Труды II Междунар. конф. — Сочи, 1999. — С. 8—12.
7. Резникова Л.С. Комплемент и его значение в иммунологических реакциях. — М., 1967. — С. 36—43.
8. Смирнова О.В., Кузьмина Г.А. Исследование бактерицидной активности сыворотки крови в норме и патологии // Журн. микробиол. — 1966 — №6. — С. 8—11.
9. Ярилин А.А. Иммунология. — М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2010. — 747 с.

Поступила 8.01.2013

Sanogenic effect of external laser irradiation onto experimental dermal wound healing in rats

Belopol'skiy A.A., Savina G.D.

Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

Single laser shot of a wound surface of rat skin with a low intensity (2.5 mW ($3.75 \cdot 10^{-2} \text{ J}$ for 15 sec) infrared laser «Scalar» led to the intensification of a musculocutaneous wound healing, earlier normalization of haematological and biochemical indices of homeostasis and more pronounced activation of the the innate immunity factors (blood phagocytes, lysozym, and R-proteins) at the 2 day of the experiment. Sanogenical mechanisms were shown to possess common evolutionary basis with pathogenic reactions, thus, their interaction in regeneration processes can be manifested linearly and interdependently.

Key words: *infrared laser wound healing, sanogenesis*