

УДК 617.736-007.23:615-085.849.19-097-092.18

© Т.В. Дегтяренко, А.В. Богданова, 2012.

## НЕЙРОИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ БИОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ЗРИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗАТОР АДЕКВАТНОГО РЕЖИМА НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ МАКУЛОДИСТРОФИИ

Т.В. Дегтяренко, А.В. Богданова

ГУ «Южно-украинский национальный педагогический университет имени К.Д. Ушинского»; ГП «Украинский НИИ медицины транспорта» МЗ Украины, г. Одесса.

### PATHOGENETIC STUDY OF IMMUNOLOGICAL REACTIVITY IN DYNAMICS OF LOW-INTENSIVE LASER IRRADIATION DIFFERENT RANGE SPECTRUM INFLUENCE ON A VISUAL ANALYZER IN PATIENTS WITH MACULAR DYSTROPHY

T.V. Degtyarenko, A.V. Bogdanova

#### SUMMARY

The article is present clinical and immunological motivation to practicability of the use low-intensive laser irradiation different range spectrum under its action on visual analyzer as therapy of the initial forms macular degeneration. The optimum mode of the use laser irradiation will installed for achievement immunocorrection - a joint consequent use green (520 nm) and infrared (940 nm) range spectrum, on 5 sessions, duration 300 sec. The radiation power on the surface of the cornea at 0,4 mWt/cm<sup>2</sup>. The frequency of repetition light pulse - 30 Hz, the radiation energy in the range of 10<sup>-3</sup> - 10<sup>-4</sup> J. We proved its positive influence upon all section immunology protection, cellular markers to activations (CD 38, CD 7, CD 25), autoimmunity (CD 5) and apoptosis (CD 95).

### НЕЙРОИММУНОМОДУЛЮЮЧІ ЕФЕКТИ БІОСТИМУЛЮЮЧОГО ВПЛИВУ НА ЗОРОВИЙ АНАЛІЗАТОР АДЕКВАТНОГО РЕЖИМУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЮВАННЯ ПРИ МАКУЛОДІСТРОФІЇ.

Т.В. Дегтяренко, О.В. Богданова

#### РЕЗЮМЕ

Представлено клініко-імунологічне обґрунтування доцільності використання низько інтенсивного лазерного опромінювання при його дії на зоровий аналізатор в якості патогенетично орієнтованої терапії початкових форм макулодістрофій. Встановлено оптимальний режим використання низько інтенсивного лазерного опромінювання для досягнення імунокорекції: спільне послідовне застосування зеленого (520 нм) й інфрачервоного (940 нм) діапазонів спектру; 5 сеансів, тривалістю 300 с. Частота повторення імпульсів дорівнює 30 Гц, енергія випромінювання 10<sup>-3</sup> - 10<sup>-4</sup> Дж, потужність випромінювання на поверхні рогівки 0,4 мВт/см<sup>2</sup>. Доведено його позитивний вплив на всі ланки адаптативного імунологічного захисту, клітинні маркери активації (CD 25, CD 38, CD 7), автоімунного компоненту (CD 5) та апоптозу (CD 95).

#### **Ключевые слова:** макулодистрофия, нейроиммуномодуляция, низкоинтенсивное лазерное излучение.

Широчайшая распространённость макулодистрофии сетчатки (МДС) и необходимость разработки адекватных подходов к терапии этой патологии обуславливает актуальность изучения механизмов иммунокорректирующих лечебных эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения различных диапазонов спектра (НИЛИРДС) при их воздействии на зрительную сенсорную систему (ЗСС) при начальных дистрофических изменениях сетчатки глаза. На основании изучения механизмов нейроиммуномодулирующего влияния НИЛИРДС при его чреззрачковом воздействии на зрительный анализатор (50 кроликов – оранжевый диапазон, 48 животных – зелёный, 50 – инфракрасный, по три серии иммунологических исследований на каждый диапазон). Нами был установлен адекватный режим этого вида биостимуляции для достижения иммунокорректирующих эффектов (повышение количества лейкоцитов, фагоцитарной активности

нейтрофилов и функциональной активности Т-хелперов) [1, 2]. Оптимальное нейроиммуномодулирующее влияние оказывал такой режим применения НИЛИ: 5 сеансов в режиме зелёного и 5 сеансов в режиме инфракрасного излучения; длительность 300 с; мощность излучения на поверхности роговицы 0,4 мВт/см<sup>2</sup>; частота повторения световых импульсов - 30 Гц; длительность импульсов - 10 мс; энергия излучения в диапазоне 10<sup>-3</sup> - 10<sup>-4</sup> Дж. Данная работа направлена на обоснование принципиально нового подхода к решению актуальной проблемы лечения МДС путём адекватного биостимулирующего воздействия на сетчатку глаза низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) с целью достижения, как иммунокорректирующих, так и лечебных эффектов.

**Целью настоящих исследований** явилось изучение механизмов нейроиммуномодулирующих эффектов адекватного режима низкоинтенсивного

лазерного излучения (НИЛИ) при его воздействии на зрительный анализатор у больных с начальными формами макулодистрофии сетчатки. В наших исследованиях нейроиммуномодулирующих механизмов решались следующие задачи: 1) оценка динамики иммунологической реактивности у больных с МДС до и после применения адекватного режима НИЛИ при его воздействии на ЗСС; 2) изучение изменений специфического иммунного ответа к антигенам сетчатой оболочки глаза и к нейромедиатору – адреналину у больных МДС до и после применения адекватного режима НИЛИ при его воздействии на ЗСС; 3) исследование изменений количественного содержания лимфоидных клеток, экспрессирующих молекулярные маркеры ранней и поздней активации, апоптоза, а также оценка уровня экспрессии лимфоидными клетками маркера аутоагрессии у больных МДС до и после воздействия адекватного режима НИЛИ на зрительный анализатор.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено комплексное иммунологическое обследование 120 больных с начальными дистрофическими изменениями сетчатки (основная группа) до и после применения адекватного режима НИЛИ на ЗА, а также проведена оценка результатов клинической эффективности предпринятого биостимулирующего воздействия на сетчатую оболочку глаза. Контрольную группу составили 16 соматически здоровых лиц. Изучение состояния иммунологической реактивности осуществлялось иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител [3].

Проведенные исследования показали, что после проведения у больных МДС низкоинтенсивной лазеротерапии в оптимальном биостимулирующем воздействии на ЗСС происходит коррекция практически всех наблюдаемых у этих пациентов иммунных дисфункций. Количество лейкоцитов у больных МДС до применения адекватного режима НИЛИ составило  $4,71 \pm 1,04$  тыс. кл/мкл, а после воздействия на ЗА стало составлять  $5,87 \pm 1,09$  тыс. кл/мкл ( $p < 0,05$ ), что соответствовало нормативному значению этого показателя  $5,32 \pm 0,95$  тыс. кл/мкл. Абсолютное содержание лимфоцитов в крови больных МДС до лечения составило  $1,13 \pm 0,34$  тыс. кл/мкл (в контрольной группе  $1,33 \pm 0,31$  тыс. кл/мкл), а после 10 сеансов НИЛИ при его воздействии на ЗА достигло нормативного значения этого показателя  $1,42 \pm 0,36$  тыс. кл/мкл. Процентное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов по экспрессии CD 3 у больных МДС до применения НИЛИ составило  $58,45 \pm 8,46$  % и  $644,22 \pm 169,96$  тыс. кл/мкл (в контрольной группе  $64,47 \pm 6,52$  % и  $853,07 \pm 253,96$  тыс. кл/мкл), а после применения биостимулирующего воздействия лазеротерапии на ЗСС стало составлять

$67,0 \pm 7,89$  % и  $914, \pm 14$  тыс. кл/мкл ( $p < 0,05$ ).

Оценка воздействия НИЛИ на специфический иммунный ответ к антигенам сетчатой оболочки глаза и к адреналину у больных МДС выявила значительное модулирующее влияние оптимального режима лазеротерапии на вышеуказанную специфическую иммунореактивность. Об этом свидетельствуют данные нагрузочных тестов по показателям «активных» Е-РОК с антигенами сетчатой оболочки глаза и с нейромедиатором адреналином после применения у пациентов с МДС 10 сеансов биостимулирующего воздействия на ЗСС. Если до применения НИЛИ у больных с МДС инверсия процентного содержания «активных» Т-клеток на адреналин составила  $14,82 \pm 2,83$  %, то после воздействия на ЗСС она снизилась до  $8,35 \pm 3,33$  %, ( $p < 0,05$ ). В контрольной группе этот показатель составил  $6,6 \pm 2,4$  %. Подобным образом изменялась чувствительность организма к нейроспецифическим белкам сетчатой оболочки глаза. Так, до применения НИЛИ у больных МДС инверсия процентного содержания «активных» Т-клеток в нагрузочном тесте с антигенами сетчатой оболочки глаза составила  $16,12 \pm 3,97$ , то после НИЛИ этот показатель достоверно снизился и составил  $7,82 \pm 3,49$  % ( $p < 0,05$ ).

Проведено сопоставительное изучение состояния иммунологической реактивности организма и количественного содержания лимфоидных клеток, экспрессирующих маркеры активации, апоптоза и аутоиммунной агрессии у пациентов с МДС. Предпринятый сравнительный анализ показателей иммунограммы и экспрессии наиболее важных маркеров лимфоидных клеток (CD 7, CD 38, CD 45, CD 54, CD 150, CD 95, CD 5) до и после применения адекватного режима воздействия НИЛИ на ЗСС у пациентов с МДС показал следующее. Установлено достоверное повышение процентного и абсолютного уровня активации субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих маркер активации CD 25 у больных МДС. Так, до применения НИЛИ этот показатель составил  $10,4 \pm 4,84$  % и  $212,1 \pm 15,17$  тыс. кл/мкл, а после применения НИЛИ –  $22,25 \pm 3,98$  % и  $296,42 \pm 112,73$  тыс. кл/мкл. ( $p < 0,05$ ). Повышение уровня экспрессии молекулярного маркера CD 25 свидетельствует об активации у наблюдаемых больных синтеза Т-лимфоцитами ИЛ-2, который, как известно аутокринно воздействует на клетки в которых он и был синтезирован: в этих клетках активируется процесс деления и за счёт этого усиливается функциональная активность всей популяции Т-лимфоцитов, участвующих в специфическом иммунном ответе на данный антиген, что мы и наблюдаем у наших больных. Как показали наши исследования, до проведения у больных МДС низкоинтенсивной лазеротерапии в оптимальном биостимулирующем воздействии на ЗСС процентное и абсолютное содержание CD 5 (маркер

аутоагрессии) составляло  $26,33 \pm 3,64\%$  и  $290,95 \pm 100,65$  кл/мкл. После применения биостимулирующего воздействия лазеротерапии этот показатель стал составлять  $15,06 \pm 4,65\%$  и  $216,39 \pm 76,87$  тыс кл/мкл, (в контрольной группе  $10,8 \pm 2,01\%$  и  $106,1 \pm 52,12$  тыс. кл/мкл ( $p < 0,05$ ). Установлено достоверное изменение содержания CD 95 (маркер апоптоза) у больных МДС после проведения биостимулирующего воздействия на ЗСС. До применения воздействия адекватного режима НИЛИ на ЗСС процентное и абсолютное содержание CD 95 составляло  $25,88 \pm 3,77\%$  и  $264,4 \pm 6,79$  тыс. кл/мкл, после оно составило  $16,22 \pm 4,79\%$  и  $231,53 \pm 95,29$  тыс. кл/мкл (в контрольной группе  $8,5 \pm 2,01\%$ ,  $p < 0,05$ ).

Клиническая эффективность проводимой терапии также была достаточно высокой и выражалась в следующем: у 88 % пациентов острота зрения повысилась на 25-30 % (после второго курса применения – на 22-25 %); происходила нормализация рефлексов сетчатки в макулярной зоне; уменьшалась площадь абсолютных скотом, и наблюдался их переход в относительные, а относительные скотомы исчезали; на 33 % повысилась световая чувствительность колбочек (после второго курса – на 40 %); критическая частота слияния мельканий в зелёном и красном свете повышалась на 95-101 %; уменьшались и даже исчезали имеющиеся искривления линий и отображения предметов. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о целесообразности клинического применения и эффективности при макулодистрофии сетчатки биостимулирующего воздействия на зрительную сенсорную систему адекватного режима низкоинтенсивного лазерного излучения.

#### ВЫВОДЫ

1. Установлено положительное влияние применения адекватного режима низкоинтенсивного лазерного излучения на зрительную сенсорную систему на основные звенья иммунологической

реактивности организма у больных макулодистрофией сетчатки.

2. Направленная биостимуляция путём воздействия НИЛИ на зрительную сенсорную систему приводит к снижению специфического иммунного ответа к антигенам сетчатой оболочки глаза и к нейромедиатору -адреналину у больных с макулодистрофией сетчатки.

3. Иммунокорректирующее влияние адекватного режима низкоинтенсивного излучения при его воздействии на ЗСС проявлялось в экспрессии молекулярных маркеров активации (CD 7, CD 38, CD 25), и в снижении экспрессии лимфоидными клетками маркеров апоптоза (CD 95) и аутоиммунной агрессии (CD 5).

4. Результаты проведенного комплексного иммунологического обследования у больных с макулодистрофией сетчатки в динамике воздействия на зрительную сенсорную систему адекватного режима низкоинтенсивного лазерного излучения свидетельствуют об иммунокорректирующем влиянии этого неинвазивного способа биостимуляции и свидетельствуют о целесообразности его клинического применения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дегтяренко Т.В., Богданова О.В. Спосіб впливу на імунологічну реактивність за допомогою низькоінтенсивного різнокольорового лазерного опромінювання зорового аналізатора. Патент № 18295 від 15.11 2006, Бюл. № 7, 2006.

2. Дегтяренко Т.В., Богданова О.В., Чаура А.Г. Теоретико-методичні засади клітинного застосування спрямованої нейроімуномодуляції шляхом адекватного біостимулюючого впливу на зорову сенсорну систему// Досягнення біології та медицини. – 2008. - № 2. – С. 8-16.

3. Глузман Д.Ф., Складенко А.М., Нагорная В.А. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей, Киев, Морион, 2003. - С. 140-142.