

Пузырева Галина Анатольевна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ
БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СПЕКТРАЛЬНОЙ ФОТОТЕРАПИИ**

14.03.11 – восстановительная медицина, спортивная медицина,
лечебная физкультура, курортология и физиотерапия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2010

Работа выполнена в ФГУ «Российский научный центр восстановительной медицины и курортологии Росздрава»

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор Фролков Валерий Константинович
доктор технических наук Рукин Евгений Михайлович

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор Нагорнев Сергей Николаевич
Доктор биологических наук Малашенкова Мария Викторовна

Ведущая организация:

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им.
М.Ф.Владимирского

Защита состоится « 23 » июня 2010 г. в « 11 » часов на заседании диссертационного совета Д 208.060.01 при ФГУ «Российский научный центр восстановительной медицины и курортологии Росздрава» (121069, Москва, пер. Борисоглебский, 9).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «Российский научный центр восстановительной медицины и курортологии Росздрава» (121069, Москва, пер. Борисоглебский, 9).

Автореферат разослан « » 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор

Фролков В.К.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одной из актуальных проблем восстановительной медицины является разработка новых неинвазивных и немедикаментозных технологий активизации защитно-приспособительных саногенетических реакций, основанных на действии физических факторов различной природы на различные функциональные системы организма (А.Н.Разумов с сотр., 1997-2006). При этом немедикаментозные технологии обладают рядом неоспоримых преимуществ, к числу которых следует отнести активацию эндогенных биорегуляторов и, как следствие, отсутствие явлений привыкания, отсутствие аллергенного, тератогенного, токсического и других побочных эффектов, благотворное влияние на психоэмоциональную сферу; доступность; биосоциальную результативность по формированию культуры здоровья, утверждению здорового образа жизни; высокую технологическую и экономическую эффективность.

Особое место среди различных немедикаментозных методов занимает спектральная фототерапия – инновационная технология, сочетающая принципы физио- и рефлексотерапии. Терапевтический эффект достигается за счет воздействия на организм спектром электромагнитного излучения строго определенного состава. При этом используется источник света с линейчатым спектром излучения определенного химического элемента или группы элементов.

Одним из таких перспективных направлений является фототерапия, построенная на принципиально новых технических решениях (Е.М.Рукин, 2001-2006), суть которых заключается в применении светового излучения, генерируемого катодом спектральной лампы с микроэлементными добавками различных металлов. При этом акцептор светового излучения до настоящего времени мало изучен, хотя есть отдельные сведения о важной роли изменения элементного гомеостаза (А.В.Творогова, 2008). Вместе с тем сами по себе микро- и макроэлементы, при всей их биологической значимости, могут выступать лишь в качестве, возможно, начального звена в сложной цепи реализации эффектов спектрального светового воздействия на организменном уровне.

Не вызывает сомнений, что в системе комплекса ответных реакций организма на световое воздействие существенная роль может принадлежать реак-

циям и процессам энергетического метаболизма (в первую очередь, углеводного и липидного обменов), благодаря которым формируются защитно-приспособительные механизмы в ответ на действие неблагоприятных и патогенных факторов. Поэтому разработка новых методов коррекции саногенетических реакций метаболического характера путем применения немедикаментозных технологий воздействия (в нашем случае использование энергетического потенциала спектрального светового потока) на живой организм является актуальной проблемой восстановительной медицины. Вместе с тем, исследований подобного плана в этой области практически нет, хотя отдельные факты терапевтической ценности воздействия лампы с полым катодом, генерирующей свет с определенным спектром, приведены в работах М.М.Шариповой (2005-2009) и А.В.Твороговой (2007-2008). Авторами доказано значимое влияние спектрального фотовоздействия на активность различных биологических процессов, однако многие вопросы механизмов этих реакций возможности применения спектральной фототерапии для восстановительной коррекции нарушенных функций при различных заболеваниях остаются открыты.

Цель исследований: изучение механизмов влияния спектрального светового потока на различные звенья метаболизма углеводов и липидов и формирование саногенетических реакций у экспериментальных животных, испытывающих воздействия неблагоприятных и патогенных факторов.

Задачи исследования:

1. Проанализировать влияние различных спектров светового потока ламп с полым катодом на различные звенья метаболизма углеводов и липидов в условиях *in vitro* и *in vivo*.
2. Исследовать биологические эффекты спектрального светового потока при различных вариантах экспериментальной патологии.
3. Изучить пространственную и временную архитектуру реализации биологических эффектов спектрального светового потока от места воздействия до гомеостаза углеводов и липидов на системном уровне.

Научная новизна. Впервые проведены исследования по изучению возможных механизмов биологического действия светового воздействия видимого

спектра, изучаемого лампами с полым катодом, состав которого варьируется добавлением различных макро- и микроэлементов. Доказано, что присутствие в световом потоке спектров ионов марганца и меди способствует кратковременному повышению их концентрации в месте воздействия. Фотофорез спектрами марганца и меди их водорастворимых солей значительно увеличивает концентрацию этих ионов в местном кровотоке.

Световое воздействие спектрами марганца и меди достоверно увеличивает скорость заживления экспериментальных ран кожи (в среднем на 10-15%), при этом отчетливо выявляется системный характер ответных реакций организма на этот физиотерапевтический фактор – в меньшей степени активизируются стрессорные реакции на фоне усиления метаболических эффектов инсулина и снижения активности прооксидантных механизмов.

Предварительное световое воздействие спектрами меди и марганца в течение двух недель на неповрежденную кожу спины экспериментальных животных повышает их резистентность к действию мощного стрессорного воздействия – значительно (более, чем на треть) снижается степень повреждения слизистой оболочки желудка на фоне меньшего подъема активности глюкокортикоидов и увеличения продукции инсулина и оптимизации системы про- и антиоксидантов.

Доказано, что спектральный световой поток модифицирует активность металлосодержащих ферментов (глюкозооксидазы и), однако эти эффекты проявляются в условиях *in vitro*.

Практическая значимость.

Обосновывается проведение специальных клинических исследований по возможности практического применения биологических эффектов спектрального светового потока у человека. Показана принципиальная возможность повышения резистентности организма к действию неблагоприятных факторов при профилактическом применении светового потока лампы с полым катодом. В состав которого входят марганец и медь.

Положения, выносимые на защиту:

Воздействие световым потоком видимого диапазона линейчатого спектра, характерного для того или иного микроэлемента, способно изменять его концентрацию в каждом кровотоке в месте облучения, существенно усиливать фотофорез его водорастворимых солей и активность некоторых ферментов.

Способность спектрального светового потока изменять концентрацию в крови определенных микроэлементов (в частности, марганца и меди) оказывает стимулирующее влияние на саногенетические процессы при заживлении экспериментальной раны кожи и обладает первично-профилактическим действием в плане снижения чувствительности организма к мощным стрессорным воздействиям.

Световое воздействие линейчатым спектром некоторых микроэлементов может изменять активность металлосодержащих ферментов, принимающих участие в метаболизме углеводов и липидов.

Апробация работы.

Результаты работы доложены на заседании научно-методического совета Российского научного центра восстановительной медицины и курортологии, опубликованы в журнале, рекомендованных ВАК Минобрнауки, и в виде тезисов научно-практических конференций. По теме диссертации опубликовано 1 статья и 6 тезисов.

Структура работы.

Работа изложена на 109 страницах машинописи и включает введение, аналитический обзор, методическую главу, главу собственных исследований и обсуждение результатов, заключение, выводы и список литературы (182 публикация, 164 - отечественных и 18 - зарубежных авторов). Рукопись иллюстрирована 14 таблицами и 12 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Исследования носили комплексный клинико-экспериментальный характер. В испытаниях приняли участие 18 практически здоровых добровольцев средним возрастом около 42 лет. В условиях эксперимента были использованы

192 нелинейные белые крысы, часть из которых были здоровы, а у других воспроизводились различные патологические модели.

У 68 животных под нембуталовым наркозом воспроизводили раневой процесс методом иссечения полнослойного кожного лоскута в межлопаточной области в проекции шейно-грудного отдела позвоночника (площадь раны составляла около 1 см²). Особенности посттравматической регенерации по морфологическим показателям и площади раневой поверхности кожи изучали в течение 15 дней.

37 крыс подвергались мощному стрессорному воздействию по методике И.С.Заводской, которую проводили под эфирным наркозом: на двенадцатиперстную кишку накладывали на 10 минут зажим Пеана, после чего операционный разрез зашивали. Степень поражения слизистой оболочки желудка оценивали по балльной системе, предложенной В.Г.Смагиным с соавт. (1981). Исследования проводились через 24 часа после воспроизведения патологической модели.

В крови животных определяли уровень глюкозы, холестерина, триглицеридов, малонового диальдегида, активность каталазы, концентрацию инсулина и кортизола, а также содержание микроэлементов – марганца и меди.

В крови здоровых добровольцев в условиях *in vivo* анализировали концентрацию ионов марганца и меди, а в условиях *in vitro* исследовали изменение активности иммобилизованного ферментативного комплекса, входящего в тест-полоски для определения концентрации глюкозы, холестерина и триглицеридов.

Во всех исследованиях анализировались биологические эффекты светового потока ламп с полым катодом, в состав которого входили марганец, медь, их сочетание, а также более сложный комплекс, дополнительно включавший ионы ванадия. Контролем во всех случаях был световой поток аргоновой лампы. Световое воздействие у человека осуществлялось на паравертебральную зону спины, у животных – на область раневой поверхности и аналогичную зону спины у крыс, у которых впоследствии проводилось мощное стрессорное воздействие по методике И.С.Заводской.

Длительность светового воздействия (за исключением специальной серии исследований) составляла 1 минуту.

Экспериментальные исследования проведены на базе Института биологии развития РАН, *in vitro* и *in vivo* исследования с участием здоровых добровольцев – во Всероссийском научном кардиологическом центре.

Световое воздействие ЛПК, в состав которой входили различные макро- и микроэлементы, осуществлялось контактным способом в течение 1-5 минут. Для фотофореза использовали 10% водные растворы хлорида натрия и кальция, а также 1% растворы хлорида меди и марганца. Статистический анализ проведен с использованием программного комплекса Stastica for Windows v. 6

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе нашей работы было проведено *in vivo* исследования влияния спектрального светового потока на изменение концентрации некоторых микроэлементов в крови у здоровых добровольцев. Были выбраны марганец и медь, поскольку, во-первых, их динамика по данным разработчика технического обеспечения спектрофототерапии Е.М.Рукина была наиболее значимой из изученных им нескольких десятков микроэлементов, во-вторых, и марганец и медь в качестве металлоорганических комплексов принимают активное участие в регуляции различных метаболических процессов, и, наконец, в-третьих, в последнее время стали появляться весьма интересные сведения о возможности применения светового потока со спектрами меди и марганца в комплексной терапии больных с эндокринологическими заболеваниями (М.М.Шарипова, 2008-2010).

Нами установлено (табл. 1), что световое воздействие на паравертебральную область в течение 1 минуты может приводить к увеличению концентрации марганца и меди в крови испытуемых только в том случае, если в состав катода лампы входили эти микроэлементы, при этом одновременное присутствие спектров марганца и меди оказывает аналогичный эффект.

Влияние облучения кожи лампами с полым катодом на изменение концентрации микроэлементов, входящих в состав катода

| Микроэлемент (мг/л) | Контроль | Состав катода полый лампы | | |
|---------------------|--------------|---------------------------|----------------------|----------------------|
| | | Медь | Марганец | Медь+марганец |
| Марганец | 0,019±0,0011 | 0,017±0,0009 | 0,020±0,0011 | 0,019±0,0012 |
| | 0,020±0,0012 | 0,018±0,0010 | 0,029±0,0015* | 0,026±0,0013* |
| Медь | 0,90±0,028 | 0,92±0,019 | 0,89±0,024 | 0,91±0,023 |
| | 0,94±0,031 | 1,24±0,025* | 0,93±0,025 | 1,28±0,031* |

Анализ возможности усиления этого эффекта за счет увеличения времени экспозиции показал (рис. 1), что данный феномен ограничен во времени и световое воздействие более 1-2 минут не приводит к пролонгации динамических изменений концентрации этих микроэлементов. Отметим также два важных обстоятельства. Первое - вне зависимости от длительности светового воздействия (в диапазоне от 1 до 10 минут) концентрация в крови исследуемых микроэлементов, достигнув максимума через 1-2 минуты, затем постепенно снижается. Второе – изменение концентрации меди и марганца фиксируется только в местном кровотоке (в капиллярной крови в месте светового пятна), тогда как на системном уровне никаких значимых изменений уровня меди и марганца в крови нами не фиксировалось.

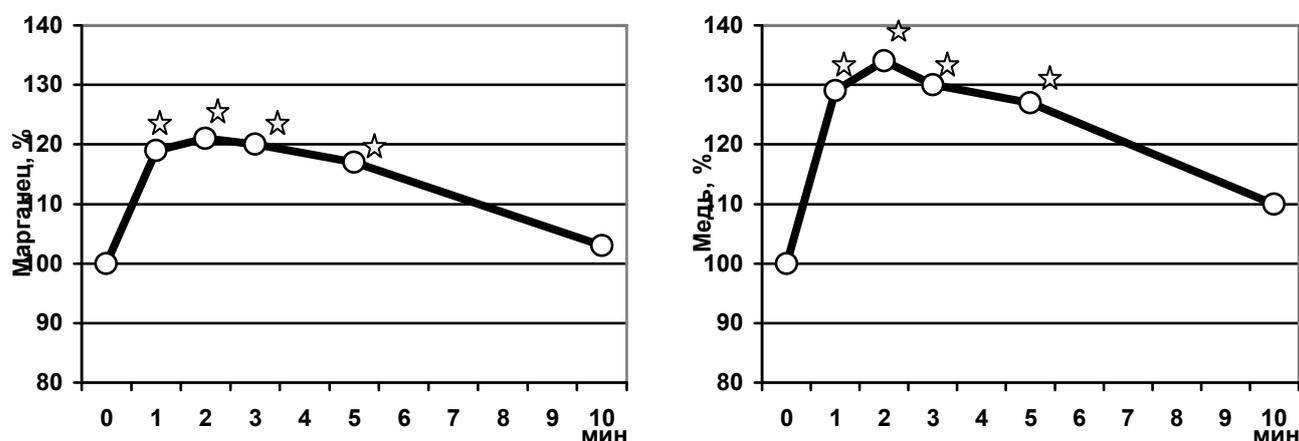


Рис. 1. Динамика изменения концентрации марганца и меди в крови в месте светового облучения со спектром соответствующего микроэлемента.

Вместе с тем, если в качестве воздействия применить фотофоретический эффект светового потока лампы с полым катодом (рис. 2), то можно зафиксировать не только весьма существенное изменение концентрации ионов меди и марганца в местном кровотоке (их содержание повышалось многократно), но и одновременно отмечалось некоторое увеличение уровня этих микроэлементов в общем кровотоке (в среднем на 12-18%).

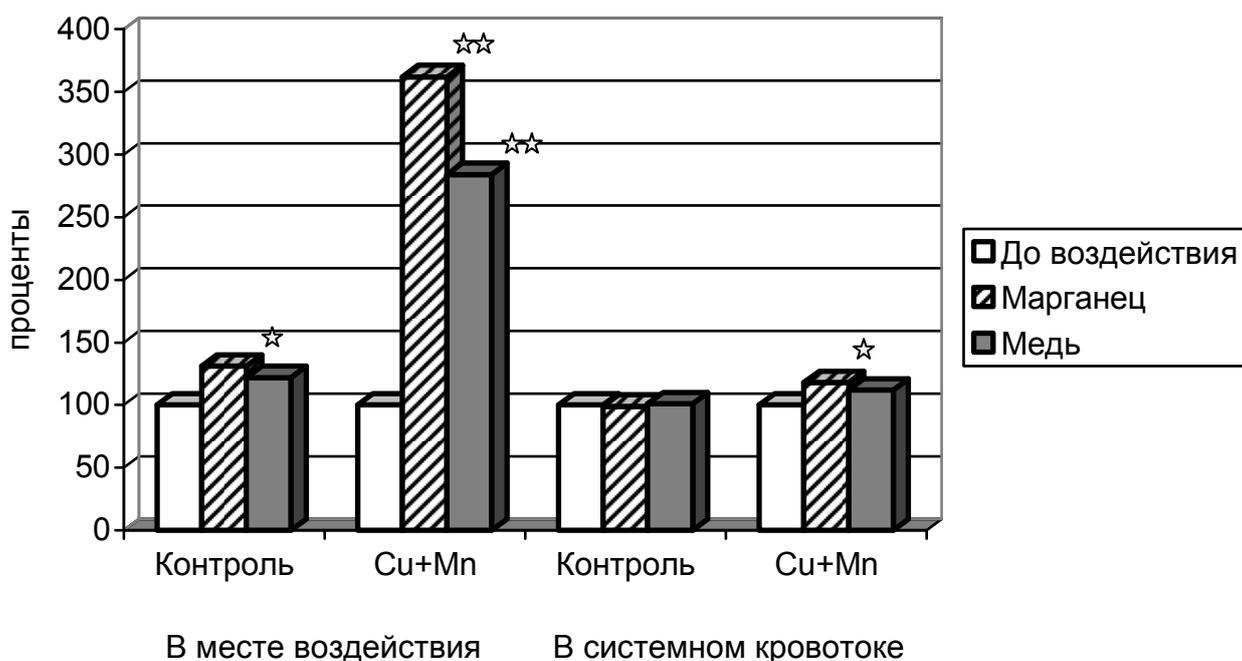


Рис. 2. Влияние спектрального светового потока на фотофорез солей марганца и меди

Таким образом, нами подтверждены основные феномены спектральной фототерапии – возможность воздействия на элементный гомеостаз в крови, определены временные интервалы проявления этого феномена и показана принципиальная возможность его усиления за счет явления спектрально зависимого фотофореза.

Изучение возможных биологических эффектов спектрального светового потока было проведено нами в условиях экспериментальной модели раны кожи, поскольку, с одной стороны достаточно просто анализировать скорость репаративных процессов по изменению площади раневой поверхности, а с другой стороны – эта модель давно и успешно применяется в экспериментальной ме-

дицине в том числе и для исследования механизмов метаболического обеспечения восстановительных реакций.

Нами установлено (табл. 2), что световое воздействия спектрами марганца, меди и их комбинацией приводит к достоверному увеличению скорости уменьшения площади раневой поверхности. Отметим три особенности. Во-первых, при моновоздействии некоторое преимущество в плане репаративного эффекта имеет спектр марганца. Во-вторых, комбинированное спектральное воздействие обладает большим биологическим потенциалом. В-третьих, результаты спектральной фототерапии начинают проявляться практически с первых дней воздействия.

Таблица 2

Эффективность влияния различных спектров светового потока лампы с полым катодом на площадь травматической раны (в см²)

| Дни исследования | Контрольная группа (n=16) | Элементный состав катода лампы | | |
|------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------------|
| | | Cu (n=20) | Mn (n=20) | Cu+Mn (n=20) |
| 1 | 0,93±0,06 | 0,85±0,07 | 0,81±0,05 | 0,75±0,07 |
| 3 | 0,81±0,04 | 0,76±0,05 | 0,72±0,06 | 0,63±0,05* |
| 5 | 0,62±0,03 | 0,61±0,04 | 0,53±0,05 | 0,42±0,04*# |
| 7 | 0,50±0,03 | 0,44±0,03 | 0,38±0,04* | 0,24±0,03*#& |
| 9 | 0,37±0,02 | 0,25±0,02* | 0,24±0,03 | 0,17±0,02*# |
| 11 | 0,31±0,02 | 0,20±0,03* | 0,17±0,02* | 0,10±0,01 |
| 13 | 0,22±0,01 | 0,18±0,02 | 0,16±0,02 | 0,07±0,01*#& |
| 15 | 0,14±0,01 | 0,11±0,02 | 0,13±0,02 | 0,06±0,01*#& |

Примечание: надстрочные индексы показывают достоверность различия (* - по сравнению с контролем, # - по сравнению с эффектами спектра Cu; & - по сравнению с эффектами спектра Mn). В скобках указано число животных

Анализ возможных механизмов ускорения репаративных процессов под влиянием спектрального светового потока позволил выявить ряд важных обстоятельств. В процессе формирования восстановительных процессов у животных с экспериментальной кожной раной имеет место постепенное угасание гиперкортизолемии – естественной реакции организма на патологическое воздействие (табл. 3).

Таблица 3

Динамика секреции гормонов и метаболических показателей у крыс с травматическим поражением кожи в процессе курсового воздействия световым потоком лампы с полым катодом различного состава

| Показатели | Группы животных | До операции | После создания модели травматического повреждения кожи, дни | | | | |
|-------------------------------|-----------------|-------------|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | | 3 | 5 | 7 | 11 | 15 |
| Кортизол, нмоль/л | Контроль | 34,2±2,47 | 71,5±6,84* | 48,1±4,12* | 39,1±3,08 | 30,5±2,67 | 32,3±2,40 |
| | Cu | 31,9±2,33 | 74,1±5,79* | 40,5±3,90 | 35,0±2,81 | 31,4±2,47 | 30,0±2,35 |
| | Mn | 33,0±2,09 | 77,4±6,08* | 42,3±3,75 | 37,8±2,65 | 33,2±2,52 | 31,1±2,24 |
| | Cu+Mn | 32,6±2,51 | 68,3±5,60* | 39,2±3,44 | 30,3±2,27 | 25,1±2,17 | 27,9±2,08 |
| Инсулин, мкЕ/мл | Контроль | 22,1±1,16 | 15,7±0,88* | 17,1±0,74* | 22,5±0,92 | 24,2±1,03 | 25,9±1,08 |
| | Cu | 20,8±1,05 | 16,2±0,75* | 18,2±0,50 | 24,7±0,80 | 27,0±0,86* | 27,4±0,82* |
| | Mn | 22,5±1,13 | 16,9±0,70* | 19,8±0,52 | 25,1±0,81* | 28,3±0,94*[#] | 26,3±0,84* |
| | Cu+Mn | 21,7±1,3 | 17,4±0,57* | 25,5±0,59*[#] | 32,4±1,18*[#] | 27,5±1,07*[#] | 23,3±0,97 |
| Глюкоза, ммоль/л | Контроль | 4,42±0,17 | 5,39±0,28* | 5,05±0,23 | 5,11±0,25* | 5,02±0,20 | 4,72±0,18 |
| | Cu | 4,29±0,12 | 5,18±0,21* | 5,11±0,19* | 5,05±0,20* | 4,94±0,17 | 4,62±0,17 |
| | Mn | 4,38±0,14 | 5,22±0,24* | 4,94±0,18 | 4,81±0,17 | 4,66±0,18 | 4,42±0,16 |
| | Cu+Mn | 4,49±0,15 | 5,09±0,19* | 4,61±0,16 | 4,27±0,15[#] | 4,11±0,14[#] | 4,49±0,17 |
| Малоновый диальдегид, ммоль/л | Контроль | 5,29±0,21 | 8,34±0,64* | 7,01±0,53* | 6,92±0,47* | 6,15±0,44 | 5,81±0,39 |
| | Cu | 5,60±0,17 | 8,04±0,51* | 6,42±0,38* | 6,28±0,41* | 6,18±0,38 | 5,59±0,33 |
| | Mn | 5,37±0,17 | 8,17±0,54* | 6,59±0,40* | 6,00±0,37 | 5,82±0,35 | 5,38±0,30 |
| | Cu+Mn | 5,45±0,18 | 7,82±0,49* | 6,02±0,35 | 5,31±0,32[#] | 5,02±0,29 | 4,69±0,25*[#] |
| Каталаза, мКат/л | Контроль | 19,0±0,69 | 14,4±0,92* | 16,3±0,84* | 17,3±0,88 | 18,5±0,96 | 19,7±1,08 |
| | Cu | 18,2±0,54 | 15,0±0,81* | 17,5±0,66 | 18,3±0,77 | 19,4±0,80 | 19,0±0,73 |
| | Mn | 19,5±0,59 | 14,1±0,84* | 17,0±0,71 | 19,3±0,82 | 18,0±0,74 | 19,2±0,81 |
| | Cu+Mn | 18,7±0,48 | 15,9±0,76* | 18,3±0,64 | 21,1±0,94*[#] | 20,5±0,91 | 18,9±0,84 |

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем; [#] - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими значениями животных контрольной группы

В этих условиях на фоне применения спектрального светового потока отмечались некоторые флуктуации уровня кортизола в крови, которые сами по себе не носили выраженного достоверного характера, однако их общая направленность, особенно при комбинированном (марганец плюс медь) воздействии свидетельствовала о наличии явной тенденции более быстрого снижения уровня кортизола в крови до нормальных значений. Динамика инсулинемии также подтверждает эту закономерность, хотя в этом случае речь идет о повышении индукции гормона, который, как известно, обладает самым мощным трофическим потенциалом и его роль в энергетическом обеспечении репаративных процессов не вызывает никаких сомнений. Отчетливо видно, что комбинированное воздействие спектрами марганца и меди способствует более быстрому увеличению уровня этого гормона в крови экспериментальных животных. Подчеркнем также, что благоприятное в этом плане действие моноспектров меди и марганцев хотя и менее выражено, но, тем не менее, подтверждается, если применить специальные методы статистического анализа.

Изменение концентрации в крови глюкозы – одного из важнейших энергетических субстратов, под влиянием спектрального светового потока свидетельствует о справедливости предварительных высказываний об усилении трофических реакций инсулинового геноза.

Так отчетливо видно, что уменьшение гипергликемической реакции на патологическое воздействие в большей степени наблюдается у животных, получавших комбинированное световое воздействие спектрами меди и марганца.

Эти же тенденции проявляются при анализе состояния системы про- и антиоксидантных реакций. Ожидаемое изменение уровня малонового диальдегида (повышение на патологическое воздействие и постепенное снижение до нормальных значений) модифицируется при применении спектрального светового потока, что особо заметно при использовании комбинированного спектра марганца и меди. Выявлено, что одним из факторов сдерживания прооксидантных реакций в этом случае было увеличение активности каталазы, в частности, уже через неделю воздействия световым потоком лампы с полым катодом, в со-

став которого входили марганец и медь, активность фермента превышала контрольные значения на 12%.

Анализ корреляционных взаимосвязей свидетельствует о не случайности этих изменений (табл. 4). Даже если не обращать внимание на относительно небольшую величину коэффициентов парной корреляции, создается впечатление о системном характере ответных реакций организма в ответ на световое воздействие, в котором присутствуют спектры марганца и меди.

Таблица 4

Корреляционная матрица взаимосвязей различных параметров у крыс с травматическим поражением кожи в процессе воздействия световым потоком лампы с полым катодом

| Показатели | Кортизол | Инсулин | Глюкоза | МДА | Каталаза |
|----------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| Площадь раны | +0,18 | -0,12 | +0,39** | +0,35** | -0,11 |
| | +0,22 | -0,10 | +0,30* | +0,31* | -0,19 |
| | +0,13 | -0,18 | +0,27* | +0,37** | -0,22* |
| | +0,41* | -0,33* | +0,18 | +0,35** | -0,17 |
| Кортизол | | -0,08 | +0,44** | +0,13 | -0,05 |
| | | -0,13 | +0,37** | +0,19 | -0,10 |
| | | -0,14 | +0,29* | +0,16 | -0,13 |
| | | -0,22* | +0,35** | +0,09 | -0,09 |
| Инсулин | | | -0,22* | -0,19 | +0,18 |
| | | | -0,25* | -0,11 | +0,28* |
| | | | -0,16 | +0,05 | +0,17 |
| | | | +0,26* | -0,26* | +0,23* |
| Глюкоза | | | | +0,26* | -0,07 |
| | | | | +0,18 | -0,11 |
| | | | | +0,24* | -0,10 |
| | | | | +0,29* | -0,13 |
| Малоновый диальдегид | | | | | -0,30* |
| | | | | | -0,24* |
| | | | | | -0,19 |
| | | | | | -0,31* |

Примечание: в каждой клетке таблицы сверху вниз представлены коэффициенты парной корреляции для контрольной группы животных, световое воздействие спектром меди, марганца, и совместно Cu+Mn. Звездочкой отмечены достоверные значения коэффициентов корреляции (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$).

По-видимому, первичным в этой картине является изменение элементного гомеостаза, которое и становится причиной модификации активности метал-

лорганических соединений с участием ионов марганца и меди с последующим вовлечением в ответную реакцию гормональных факторов, контролирующих метаболические и энергетические процессы. Возможен и другой вариант реализации алгоритма биологического потенциала спектрального светового потока – это изменение на физическом уровне электронного облака молекулы этих микроэлементов, то более, что есть данные свидетельствующие о возможности перехода электронов с одной энергетической орбиты на другую под влиянием светового облучения. Однако такой сценарий носит совсем уже гипотетический характер, его практически невозможно исследовать в наших условиях, да и фактов об изменении химических свойств элемента при изменении конформации электронного облака его молекулы практически нет.

У нас нет возможности углубляться в теорию феномена спектральной фототерапии, однако факт изменения активности гормонального обеспечения метаболических и энергетических реакций под влиянием спектрального светового потока весьма интересен в плане развития одного из направлений восстановительной медицины – первичной профилактики, повышения резистентности организма к действию неблагоприятных и патогенных факторов путем предварительного применения немедикаментозных технологий, к каковым относится и исследуемый нами спектральный световой поток.

Поскольку в экспериментальной профилактической медицине уже давно применяется модель нейродистрофического повреждения желудка по методу И.С.Заводской и она достаточно просто воспроизводится, нами были проведены дополнительные исследования и в этом направлении.

Установлено, что курсового воздействие в течение 2 недель (по 2 минуты один раз в день) спектральным световым потоком на область спины (после ее депиляции) несколько снижает порог чувствительности животных к мощному стрессорному воздействию (табл. 5). Это проявилось, в частности, в меньшей степени поражения слизистой оболочки желудка, более благоприятной динамике метаболических показателей и их гормонального обеспечения, однако четких достоверных отличий от реакции контрольных животных нами выявлено не было.

Профилактические эффекты светового воздействия на модели стрессогенного повреждения слизистой оболочки желудка.

| Показатели | Контрольная группа (световое воздействие аргоновой лампой) | | Опытная группа (световое воздействие спектром Cu и Mn) | |
|--------------------------------|--|---------------------|--|--------------------|
| | До операции | После операции | До операции | После операции |
| Степень повреждения СОЖ, баллы | 0,24±0,03 | 9,93±0,84* | 0,31±0,04 | 7,80±0,77*# |
| Медь, мг/л | 0,016±0,002 | 0,008±0,001* | 0,021±0,004 | 0,019±0,003 |
| Марганец, мг/л | 0,87±0,06 | 0,69±0,05 | 0,94±0,08 | 0,92±0,08 |
| Кортизол, нмоль/л | 33,6±2,26 | 71,4±4,17* | 38,4±2,67 | 65,1±3,84*# |
| Инсулин, мкЕ/мл | 21,8±1,34 | 37,2±2,90* | 23,5±1,41 | 41,5±3,52*# |
| Глюкоза, ммоль/л | 4,26±0,12 | 5,49±0,22* | 4,18±0,11 | 5,09±0,08* |
| Холестерин, ммоль/л | 3,90±0,19 | 3,72±0,15 | 3,77±0,17 | 3,38±0,15 |
| Триглицериды, ммоль/л | 2,16±0,06 | 2,21±0,07 | 2,27±0,09 | 2,41±0,11 |
| Малоновый диальдегид, ммоль/л | 5,62±0,39 | 9,33±0,58* | 5,35±0,31 | 8,21±0,44*# |
| Каталаза, мКат/л | 18,1±0,85 | 14,0±0,56* | 19,0±1,18 | 15,2±0,74# |

Примечание: надстрочными индексами отмечены достоверные изменения (* - после стрессогенного воздействия, # - сравнительно с показателями контрольной группы).

Следует, впрочем, отметить, что если у крыс контрольной группы в ответ на патологическое воздействие отмечалось достоверное снижение концентрации в крови марганца и меди, то на фоне предварительного светового облучения спектрами этих микроэлементов ничего подобного не фиксировалось.

Однако, если в качестве воздействия применить курсовое воздействие фотофореза ионов марганца и меди при облучении смешанным спектром этих элементов, то профилактический эффект начинает выявляться более отчетливо (табл. 6). В достоверной форме отмечалась меньшая степень поражения слизистой оболочки желудка на фоне более низких концентраций в крови глюкозы и малонового диальдегида при возрастании активности каталазы. И хотя нам не удалось получить достоверно значимых различий в изменении концентрации метаболитических гормонов (инсулина и кортизола), есть все основания полагать, что фотофорез ионов марганца и меди с использованием светового потока со

спектром этих микроэлементов оказывает системное воздействие на организм экспериментальных животных и повышает их резистентность к действию патогенных факторов.

Таблица 6

Профилактические эффекты фотофореза ионов марганца и меди спектром этих микроэлементов на модели стрессогенного повреждения слизистой оболочки желудка

| Показатели | Контрольная группа (световое воздействие аргоновой лампой) | | Опытная группа (световое воздействие спектром Cu и Mn) | |
|--------------------------------|--|---------------------|--|-------------------------------|
| | До операции | После операции | До операции | После операции |
| Степень повреждения СОЖ, баллы | 0,29±0,02 | 9,65±0,79* | 0,20±0,02 | 6,11±0,59*[#] |
| Медь, мг/л | 0,018±0,003 | 0,016±0,002* | 0,040±0,004[#] | 0,031±0,003 |
| Марганец, мг/л | 0,84±0,07 | 0,80±0,09 | 1,21±0,09[#] | 1,08±0,08[#] |
| Кортизол, нмоль/л | 36,2±2,74 | 69,1±3,95* | 42,6±3,05 | 60,0±3,51*[#] |
| Инсулин, мкЕ/мл | 23,0±1,08 | 41,1±2,87* | 25,2±1,36 | 49,1±3,49*[#] |
| Глюкоза, ммоль/л | 4,33±0,11 | 5,37±0,19* | 4,05±0,09 | 4,72±0,11*[#] |
| Холестерин, ммоль/л | 3,75±0,17 | 3,28±0,16 | 3,32±0,17 | 3,01±0,14 |
| Триглицериды, ммоль/л | 2,19±0,06 | 2,29±0,07 | 2,20±0,09 | 2,63±0,12*[#] |
| Малоновый диальдегид, ммоль/л | 5,80±0,42 | 8,92±0,53* | 5,01±0,33 | 6,51±0,49*[#] |
| Каталаза, мКат/л | 18,9±0,82 | 13,3±0,61* | 20,3±1,20 | 18,4±1,04[#] |

Примечание: надстрочными индексами отмечены достоверные изменения (* - после стрессогенного воздействия, # - сравнительно с показателями контрольной группы).

В следующей серии наших исследований мы предприняли попытку изучить возможность влияния спектрального светового потока на химические процессы, происходящие в тест-системах по определению концентрации в кроли различных метаболических субстратов. Перспективность такого подхода ранее подтвердили исследования Твороговой А.В. (2009). Первоначально мы облучали спектральным световым потоком образцы крови, взятой у здоровых добровольцев, и затем с использованием тест-систем определяли концентрацию интересующих нас метаболитов. Установлено, что при таком типе воздействия практически ничего не происходит, и в облученных светом образцах крови, и в

контрольных образцах концентрация глюкозы, холестерина и триглицеридов оставались на одном уровне.

Однако, если облучать спектральным световым потоком пластинки из тест-наборов, с нанесенными на них иммобилизованными ферментами, некоторый эффект все-таки наблюдается. Так отмечается несколько заниженные значения холестерина и глюкозы по сравнению с контрольными образцами особенно при применении полого катода с более сложным составом, включавшем помимо меди и марганца еще и ванадий (соответственно на $4,8 \pm 1,18$ и $12,1 \pm 3,52$; в обоих случаях $p < 0,01$). Эта композиция микроэлементов нами была выбрана на основании результатов исследований, проведенных Твороговой А.В., показавшей, что присутствие спектра ванадия в световом потоке может изменять активность глюкозооксидазы.

В последней серии исследований изучалось влияние на эритроцитарную активность аргиназы и церулоплазмينا линейчатого спектра марганца и меди. Выбор данных ферментов был обусловлен тем, что в активный центр обоих энзимов входят ионы металлов: ионы марганца оказывают активирующее влияние на аргиназу, а активность оксидазы напрямую связана с ионами меди.

Световое воздействие ЛПК, в состав которых входили различные химические элементы (Mn, Cu, Hg, Pt), осуществлялось контактным способом в течение от 15 с до 1,5 мин. Активность аргиназы определяли в лизате эритроцитов. Кровь для исследования брали из места облучения катодной лампой. После отстаивания эритроциты отбирали и трижды отмывали изотоническим раствором хлорида натрия. Для получения лизата к отмытым эритроцитам добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:9. Активность церулоплазмينا определяли в плазме крови.

В качестве контроля выступала обычная лампа накаливания. Кроме того, в эксперименте были использованы катодные лампы с линейчатыми спектрами ртути, платины и серебра. Полученные результаты представлены в таблице 7.

Как следует из полученных данных, достоверный рост активности металлосодержащих ферментов наблюдали при облучении спектрами марганца (аргиназа) и меди (церулоплазмин).

Таблица 7

Влияние линейчатых спектров излучения различных элементов на активность аргиназы (Ар) и церулоплазмينا (ЦП)

| Элемент катода лампы | Фермент | Фон (до облучения) | Время облучения | | | | |
|---------------------------------|---------|-----------------------|-----------------|--------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | | 15 с | 30 с | 45 с | 1 мин | 1,5 мин |
| Лампа накаливания (контроль) | Ар | 15,4 ± 1,12 | 15,3 ± 1,10 | 15,2 ± 1,11 | 15,5 ± 1,13 | 15,7 ± 1,15 | 15,8 ± 1,15 |
| | ЦП | 37,5 ± 3,31 | 36,2 ± 3,30 | 35,5 ± 3,29 | 35,8 ± 3,32 | 37,8 ± 3,31 | 36,9 ± 3,33 |
| Марганец (Mn) | Ар | 15,6 ± 1,13 | 18,4 ± 1,12 | 19,6 ± 1,14* | 20,4 ± 1,15* | 26,5 ± 1,73* | 28,9 ± 1,85* |
| | ЦП | 34,2 ± 3,30 | 35,8 ± 3,44 | 33,6 ± 3,41 | 35,2 ± 3,48 | 32,7 ± 3,54 | 37,1 ± 3,30 |
| Медь (Cu) | Ар | 15,4 ± 1,13 | 14,8 ± 1,03 | 16,0 ± 1,09 | 15,1 ± 1,11 | 14,9 ± 1,15 | 15,2 ± 1,7 |
| | ЦП | 37,1 ± 3,32 | 36,8 ± 3,19 | 39,8 ± 3,27 | 53,5 ± 4,11* | 47,1 ± 3,88* | 45,8 ± 3,95* |
| Ртуть (Hg) | Ар | 15,0 ± 1,15 | 15,4 ± 1,25 | 13,8 ± 1,12 | 13,0 ± 1,18 | 12,1 ± 1,32* | 11,5 ± 1,35* |
| | ЦП | 37,7 ± 3,29 | 36,1 ± 3,22 | 32,9 ± 0,23 | 26,4 ± 3,21* | 27,3 ± 3,25* | 24,7 ± 3,26* |
| Платина (Pt) | Ар | 15,8 ± 1,16 | 15,9 ± 1,23 | 16,1 ± 1,21 | 14,7 ± 1,24 | 13,6 ± 1,15 | 15,2 ± 1,19 |
| | ЦП | 36,9 ± 3,30 | 36,5 ± 3,25 | 36,0 ± 3,41 | 35,5 ± 3,37 | 33,7 ± 3,18 | 36,2 ± 3,22 |
| Серебро (Ag) | Ар | 15,3 ± 1,10 | 15,1 ± 1,11 | 14,6 ± 1,07 | 14,0 ± 1,03 | 12,9 ± 1,05* | 14,7 ± 1,09 |
| | ЦП | 37,2 ± 3,33 | 34,0 ± 3,18 | 34,1 ± 3,20 | 30,9 ± 2,83* | 32,5 ± 3,11 | 35,8 ± 3,08 |

Примечание: * - достоверное отличие от фона при $p < 0,05$;

активность аргиназы выражали в усл.ед.акт./мг Нв, активность церулоплазмينا – ед.акт./мл плазмы

Прирост активности по отношению к их исходным значениям (фоновым) составил 15-36 % (для аргиназы) и 27 – 40 % (для церулоплазмينا). Следует обратить внимание на тот факт, что при облучении точки организма спектрами условно токсичных (серебро, платина) и токсичных (ртуть) элементов наблюдали достоверное снижение ферментативной активности рассматриваемых энзимов. При этом облучение линейчатым спектром ртути вызвало более выраженное угнетение активности. Выявленная особенность позволяет высказать предположение о том, что причиной ингибирующего действия облучения спектрами тяжелых металлов может выступать концентрационные изменения этих металлов. Их динамический избыток в точке облучения приводит к взаимодействию тиоловыми и сульфгидрильными группировками молекул ферментов с последующим нарушением структурно-функциональной организации активных центров энзимов.

Исследование зависимости активности ферментов от длительности облучения (рисунки 3 и 4) позволило установить, что пики активирующего воздействия для рассматриваемых ферментов были различными: для аргиназы – 1,5 мин, для церулоплазмينا - 45 с.

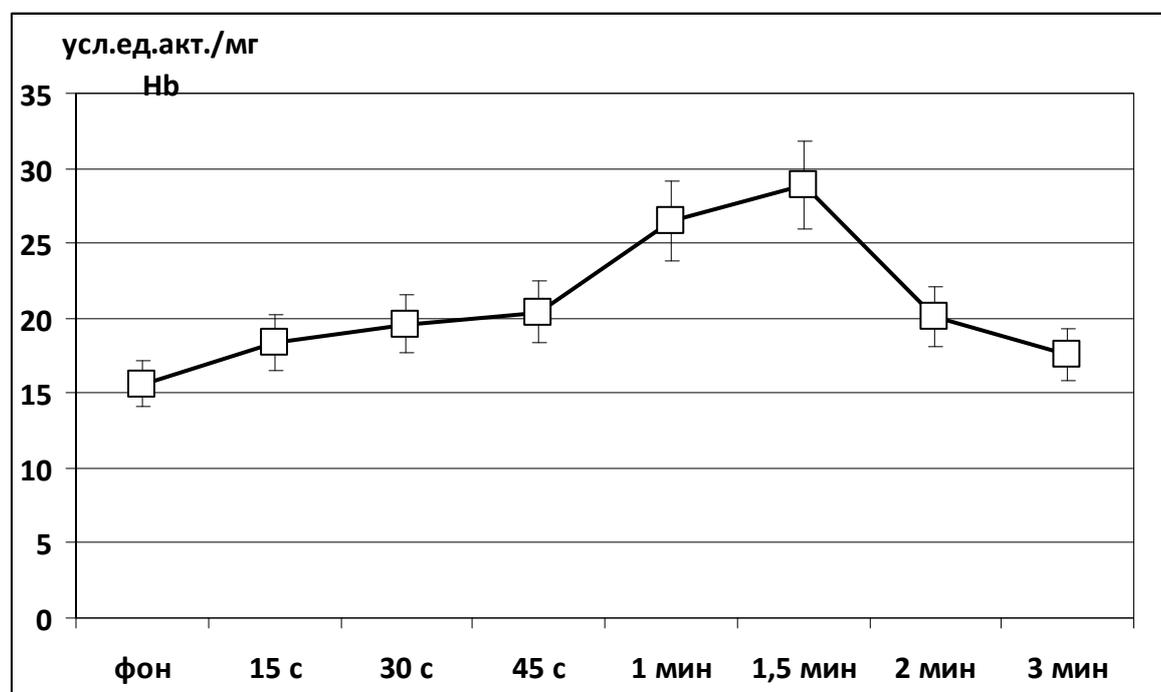


Рисунок 3. Влияние времени облучения ЛПК с линейчатым спектром марганца на эритроцитарную активность аргиназы

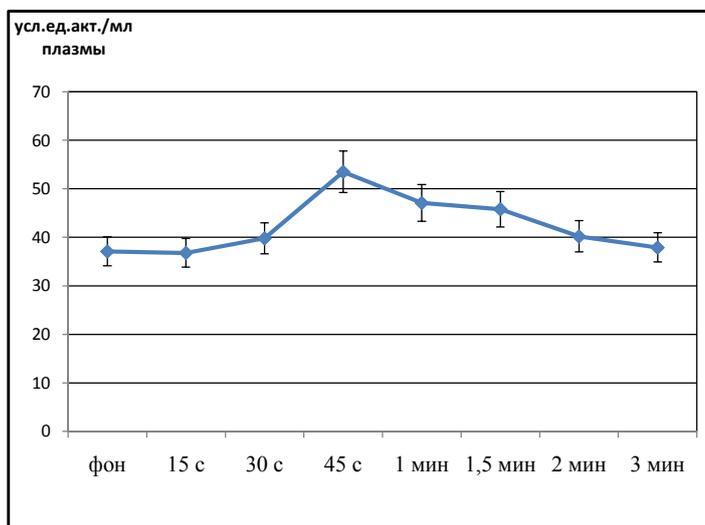


Рисунок 4. Влияние времени облучения ЛПК с линейчатым спектром меди на сывороточную активность церулоплазмينا

Такое отставание активации аргиназы мы объясняем ее внутриклеточной локализацией. На наш взгляд, преодоление эритроцитарной мембраны для ионов Mn^{++} задерживает активацию фермента. Церулоплазмин определяли во внеклеточной жидкости – плазме, поэтому его пиковая активность наступает раньше. С увеличением времени экспозиции активность ферментов снижается, оставаясь при этом выше фоновых значений. По-видимому, концентрационное повышение ионов Mn^{++} Cu^{++} , обладающих активирующим действием на аргиназу и церулоплазмин, постепенно снижается. С элиминацией катионного всплеска нарушается взаимодействие металлов с аллостерическим центром фермента, в результате чего процесс формирования и стабилизации активного центра и всей трехмерной структуры молекулы фермента также оказывается нарушенным.

Результаты этой серии исследований, безусловно, носят поисковый характер и предваряют целый цикл будущих научных разработок в сфере изменения физико-химических свойств различных металлоорганических комплексов под влиянием воздействия спектральным световым потоком.

Эти факты еще раз подтверждают системный характер воздействия ламп с полым катодом, в состав которого входят те или иные микроэлементы, и свидетельствуют о возможности применения этого физического фактора для воздействия на различные функциональные системы. Мы полагаем, что в рамках настоящего исследования были достигнуты цели биологического характера, свидетельствующие о значимости воздействия на организм человека светового спектра излучения ламп с полым катодом различного состава и возможности их применения в терапевтической практике. Дальнейшее развитие этой проблемы в практическом плане может получить свое развитие в клинических работах, а в области теории – исследования биологических эффектов всего спектра микро- и макроэлементов, возможности изменения их местного и системного гомеостаза, научно обоснованного поиска новых рецептур и топографии воздействия, изучении возможности применения этого нового физиотерапевтического фактора для профилактики соматических заболеваний, расширения понятия «металлотеерапии», что сможет существенно обогатить терапевтический арсенал восстановительной медицины.

ВЫВОДЫ

1. Световое воздействие спектром марганца и меди на неповрежденную кожу способствует кратковременному (на 2-5 минут) увеличению концентрации этих микроэлементов в крови в месте воздействия соответственно на 18 и 24%. Фотофорез этих микроэлементов из водных растворов с помощью специфического спектрального светового потока обеспечивает значительное повышение концентрации марганца и меди в месте светового воздействия, тогда как в системном кровотоке изменение уровня этих микроэлементов было незначительным.

2. Воздействие световой поток с линиями спектра марганца и меди на раневую поверхность у экспериментальных животных увеличивает скорость репаративных процессов на 12-15%, при этом отмечается оптимизация гормональной регуляции метаболических реакций за счет активизации секреции инсулина, уменьшения уровня глюкозы в крови и усиления антиоксидантной ак-

тивности. Наличие достоверных корреляционных взаимосвязей между изменением уровня марганца и меди в крови и оптимизацией гормональной регуляции метаболических реакций позволяет предположить важную роль модификации микроэлементного гомеостаза в проявлении биологических эффектов спектрального светового потока.

3. Профилактический курс светового воздействия с присутствием спектров марганца и меди в меньшей степени и спектральный фотофорез этих микроэлементов в большей степени способен повысить резистентность организма экспериментальных животных к мощным стрессорным воздействиям и в основе этого феномена лежит активизация инсулиновой регуляции метаболических реакций.

4. Световой поток лампы с полым катодом, в состав которой входят различные микроэлементы (марганец, медь и ванадий) могут оказывать модифицирующее влияние на активность иммобилизованных ферментативных систем в условиях *in vitro*, тогда как световое воздействие на кровь практически не оказывает влияния на течение биохимических реакций при определении уровня в крови глюкозы, холестерина и триглицеридов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пузырева Г.А., Фролков В.К., Бобровницкий И.П. Метаболические механизмы репаративного действия металлозависимого спектрального светового потока лампы с полым катодом (экспериментальное исследование) // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2010. – № 3. – С. 7-10.

2. Каждан Е.Я., Пузырева Г.А., Шашлов С.В. Низкоинтенсивное излучение спектральных ламп – новый фактор информационного воздействия // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в России: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2009». – М., 2009. – С. 82.

3. Рукин Е.М., Пузырева Г.А. Некоторые теоретические предпосылки для изучения механизмов лечебного действия светового потока ламп с полым катодом // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в Российской Федерации: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2009». – М., 2009. – С. 163.

4. Пузырева Г.А., Фролков В.К. К механизмам действия излучения спектральных ламп на биологические объекты // Матер. научно-практич. мероприятий V Всероссийского форума «Здоровье нации – основа процветания России»,

т.3. – М., 2009. – С. 92-93.

5. Рукин Е.М., Пузырева Г.А. Спорные вопросы механизмов лечебного действия светового потока лампы с полым катодом // Матер. научно-практич. мероприятий V Всероссийского форума «Здоровье нации – основа процветания России», т.3. – М., 2009. – С. 104-105.

6. Карлыев К.М., Пузырева Г.А., Рукин Е.М., Фролков В.К. Теоретические предпосылки влияния спектра некоторых микроэлементов на активность ферментативных систем // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в Российской Федерации: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2010». – М., 2010. – С. 79.

7. Пузырева Г.А., Фролков В.К., Шашлов С.В. Влияние спектров марганца и меди на резистентность организма к действию повреждающих факторов // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в Российской Федерации: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2010». – М., 2010. – С. 132-133.

8. Рукин Е.М., Пузырева Г.А., Фролков В.К., Карлыев К.М. Профилактические эффекты спектрального светового потока и возможные механизмы его реализации // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в Российской Федерации: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2010». – М., 2010. – С. 141.

9. Фролков В.К., Пузырева Г.А., Яковлева Т.М., Шашлов С.В. Физиологические особенности влияния светового потока лампы с полым катодом различного микроэлементного состава на организм человека // Современные тенденции и перспективы развития курортного дела в Российской Федерации: Матер. Междунар. конгр. «Здравница-2010». – М., 2010. – С. 162.