

Т. А. ПРОКОПЕНКО, Н. И. НЕЧИПУРЕНКО, И. Д. ПАШКОВСКАЯ

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПРО- АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА, СИСТЕМУ ПЕРВИЧНОГО ГЕМОСТАЗА И МОРФОЛОГИЮ КРОВИ ПРИ ТРАНЗИТОРНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ АТАКЕ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Республика Беларусь

В статье изложены современные сведения о патофизиологических и патобиохимических механизмах развития и методах диагностики транзиторной ишемической атаки (ТИА). Рассмотрены различные гипотезы взаимодействия лазерного излучения с биологическими системами. Представлены результаты изучения некоторых показателей про-, антиоксидантной системы, первичного гемостаза, ингибитора активатора плазминогена 1 типа и морфологии дегидратирующих капель плазмы крови у пациентов с ТИА.

Ключевые слова: транзиторная ишемическая атака, перекисное окисление липидов, гемостаз, морфология дегидратирующих капель плазмы крови, внутривенное лазерное облучение крови.

Введение. Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) – серьезная социальная проблема общества. Распространенность сосудистых заболеваний головного мозга неуклонно растет во всем мире и, в том числе, в Республике Беларусь.

Скорость развития ишемии и неврологического дефицита являются одними из критериев классификации ишемических поражений головного мозга. Установлено, что формирование большей части инфаркта мозга происходит через 3–6 часов с момента появления первых клинических симптомов заболевания [5]. К ОНМК относятся ишемический инсульт (ИИ) и транзиторная ишемическая атака (ТИА) [17].

Уже в первые минуты ишемии уменьшение количества АТФ, дисфункция Na^+/K^+ -АТФазы и утрата ее электрогенного эффекта вызывают деполяризацию нейронов. Это приводит к высвобождению в синаптическую щель нефизиологических количеств глутамата, что запускает механизм глутаматной эксайтотоксичности. Наряду с этим происходит активация образования активных форм кислорода (АФК) с развитием оксидативного стресса и перекисного окисления липидов (ПОЛ). Также возникает повышение концентрации ионов кальция внутри клетки, которое в сочетании с дисфункцией митохондрий и окислительным стрессом приводят к формированию раннего необратимого повреждения нейронов и их некрозу с образованием ядра инфаркта мозга (ИМ). Высвобождение из поврежденных и погибших нейронов, а также из клеток глии белков теплового шока и других повреждение-ассоциированных молекулярных паттернов (или аларминов) запускает активацию механизмов врожденного иммунитета с увеличением локальной продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов, что в сочетании с увеличением проницаемости гематоэнцефалического барьера приводит к инфильтрации поврежденного участка головного мозга лейкоцитами. Развивается нейровоспаление, которое может быть ассоциировано с наступлением «второй волны» клеточной гибели, которая в данном случае является программируемой и включает такие варианты, как апоптоз, некроптоз, аутофагия и др. Завершающие этапы ишемического каскада, которые реализуются спустя 5–7 дней, включают реактивный глиоз и формирование кисты, а также малоэффективные процессы ангиогенеза, миелинизации, нейрогенеза и нейрорегенерации [5, 17].

Транзиторная ишемическая атака – преходящий неврологический дефицит, который обусловлен очаговой ишемией головного мозга, не сопровождается развитием ИМ и регрессирует в течение 24 часов.

Для ОНМК характерна значительная гетерогенность патогенетических механизмов, лежащих в их основе. Нарушения мозгового кровообращения протекают на фоне атероматозного повреждения сосудистой стенки и эндотелиальной дисфункции, а также гиперкоагуляционного синдрома и воспаления.

Сложность патогенетической структуры ОНМК, в том числе ТИА, предполагает поиск новых методов диагностики, а также выявление ведущего механизма развития острой церебральной ишемии, что принципиально важно для выбора тактики адекватной терапевтической стратегии при лечении пациентов с ТИА.

Лазерное излучение (ЛИ) – это электромагнитное излучение оптического диапазона, которое обладает свойствами когерентности, монохроматичности, поляризованности и направленности. Перечисленные свойства ЛИ позволяют создавать высокую концентрацию энергии в нужном месте [16, 19, 20].

Изучение механизмов взаимодействия ЛИ с биологическими системами – область научных исследований, имеющая большую практическую значимость. До настоящего времени нет единого мнения о механизмах действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ), однако выдвинуто множество гипотез.

Взаимодействие ЛИ с биологической системой происходит в два этапа: поглощение световой энергии; каскад вторичных ответных реакций («терапевтический эффект»).

Биологический эффект, вызываемый светом, в том числе и ЛИ, зависит от свойств, биологической активности и природы фотоакцептора. Фотоакцептором красного спектра лазерного излучения могут быть такие железо- и медьсодержащие ферменты, как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, церулоплазмин, что приводит к реактивации ферментов, участвующих в антиокислительных реакциях [23–25], эндогенные порфирины, молекулярный кислород [8], гемоглобин [7]. Эритроциты являются акцепторами ЛИ (в красной области спектра), так как содержат порфирины. Это обусловливает позитивное влияние НИЛИ на реологические свойства крови. Согласно мембранный теории [6] основное биостимулирующее действие ЛИ связано со структурно-функциональными перестройками мембранных образований клеток и внутриклеточных органелл. Ряд авторов связывают первичное действие НИЛИ с перестройкой мембранных структур, которое проявляется уменьшением микровязкости липидного слоя и активацией кальциевых каналов, что приводит к функциональному изменению клетки [3]. В термодинамической модели действия НИЛИ, предложенной С.В. Москвиным [16], предлагается рассматривать биологические эффекты с позиции динамического взаимодействия между НИЛИ и объектом, а не с помощью модели акцептор-фотон. В качестве первичного фактора действия НИЛИ показан локальный нагрев (возникновение градиента температуры), вызывающий высвобождение ионов кальция из депо с последующей активацией кальцийзависимых процессов.

Таким образом, нет единого мнения о первичном механизме действия НИЛИ на организм, но установлен ряд физиологических процессов, доказывающих его высокую эффективность. На клеточном уровне происходит активация метаболизма ионов кальция, генерация свободных радикалов и АФК, структурное изменение мембран, повышение синтеза макроэргов и митотической активности клеток. Под действием НИЛИ на органном уровне увеличивается поглощение кислорода тканями, скорость кровотока, количество новых сосудистых коллатералей, уменьшается интенсивность отека и длительность фаз воспаления. Вышеперечисленные процессы приводят к изменениям на уровне целостного организма [18, 19].

В настоящее время возрос интерес к изучению твердых (дегидратированных) состояний различных биологических жидкостей (БЖ) [1]. Это обусловлено поиском новых методик диагностики ряда патологических состояний организма. Одним из таких методов является клиновидная дегидратация биожидкостей [21].

Метод клиновидной дегидратации БЖ позволяет зафиксировать высокодинамические химические связи между растворенными в них элементами и создать устойчивую морфологическую картину. Для данного метода чаще всего применяют плазму/сыворотку крови [1]. Основными компонентами БЖ являются белки, липиды, вода, минеральные соли. При патологических состояниях в БЖ происходят высокоскоростные изменения молекулярного состава и характера взаимодействия различных структур, отличные от нормы. Такое исследование молекулярного гомеостаза может стать основой диагностики начальных стадий заболевания [9].

С. Н. Шатохиной и В. Н. Шабалиным [21] было установлено, что БЖ структурируются и приобретают различные морфологические формы при переходе в твердую фазу. Сухая пленка БЖ, полученная при дегидратации, называется фацией. Морфологическая картина и структура фации несет информацию о протекающих в ней молекулярных взаимодействиях. При клиновидной дегидратации создаются особые условия самоорганизации, в ходе которых образуются индивидуальные для каждого специфические структуры.

Фация сыворотки крови здорового человека характеризуется наличием радиальных трещин по периферии, образующих арки, которые сходятся в центре фации. Центральная зона отмечается равномерным растрескиванием. При различных патологических процессах характер растрескиваний меняется как в центральной, так и в периферической частях капли БЖ [14].

Таким образом, в литературе недостаточно данных о структуризации капель плазмы крови при ТИА, отсутствует информация о влиянии НИЛИ на данные процессы при нарушениях мозгового кровообращения.

Цель исследования – изучить влияние НИЛИ в красной области спектра на показатели ПОЛ и АОС крови, некоторые показатели системы гемостаза, морфологию дегидратирующих капель плазмы крови при ТИА.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 51 пациент с установленным диагнозом ТИА, разделенные на две группы в зависимости от получаемого лечения. В основную группу вошли 23 человека (средний возраст – $61,7 \pm 7,2$ года), которые дополнительно к стандартной терапии (СТ) получали 8–10 процедур внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) с помощью полупроводникового лазера «Люзар МП» с длиной волны 0,67 мкм и выходной мощностью 3 мВт. Контрольную группу составили 28 пациентов (средний возраст – $65,0 \pm 8,5$ лет), получавших СТ.

У пациентов основной группы средние сроки сохранения неврологического дефицита составили 2,0 (0,7–5,0) часа. ИМ в анамнезе был у 3-х (13%) пациентов; ТИА – 2-х (8,7 %); артериальная гипертензия (АГ) – 17 (74 %); ишемическая болезнь сердца (ИБС) – 21 (91 %); сахарный диабет (СД) 2 типа – у 3-х (13 %) пациентов.

Сроки сохранения неврологического дефицита у пациентов контрольной группы составили 1,0 (0,8–5,0) час. ИМ в анамнезе был у 6 (21 %) пациентов; АГ – 16 (57 %); ИБС – 26 (93 %); СД 2 типа – 6 (21 %) пациентов. ТИА не была зарегистрирована в анамнезе ни в одном случае.

Исследовалась венозная кровь, забор которой осуществлялся в локтевом сгибе из кубитальной вены в вакуумные пробирки с гепарином натрия на 1–2-е сутки госпитализации и после проведенного лечения.

Активность СОД в цельной крови определяли методом, основанном на реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [13]. Активность каталазы в плазме крови исследовали методом, основанном на способности перекиси водорода образовывать окрашенный комплекс при взаимодействии с солями молибдена [11]. Интенсивность ПОЛ в плазме крови определяли по содержанию вторичных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), по методу В. А. Костюка [12]. Количественное определение антиоксидантной активности (АОА) в плазме крови проводили с помощью набора реагентов «Оксистат» производства ИБОХ НАНБ (РБ) спектрофотометрически. АОА

характеризует неферментативную АОС в крови и выражается в размерной молярной концентрации тролокса (водорастворимый аналог витамина Е).

Состояние функциональной активности тромбоцитов определяли с помощью импедансной агрегометрии на автоматическом тромбоагрегометре Multplate («Roche Diagnostics»). Принцип метода импедансной агрегометрии тромбоцитов (ИАТ) в цельной крови заключается в графическом отражении изменения импеданса (сопротивления) после формирования монослоя тромбоцитов на электроде и стимуляции агрегации на монослое тромбоцитов при добавлении индуктора агрегации арахидоновой кислоты (АК). Увеличение импеданса прямо пропорционально тромбоцитарной массе, осажденной на электродном блоке. Изменение импеданса отображается графически и оценивается количественно по следующим показателям: скорость агрегации (%/мин), степень агрегации (%) и площадь под кривой агрегатограммы (AUC, U). Забор крови проводили утром натощак в пробирки с гирудином.

Концентрацию PAI-1 – ингибитора активатора плазминогена 1 типа (англ. plasminogen activator inhibitor Type 1 (Serpine 1)) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA тест-наборами «Fine Test» на иммуноферментном анализаторе «BioTek».

Для изучения морфологии плазмы крови использовали метод клиновидной дегидратации. Для этого каплю плазмы наносили на поверхность тщательно промытой подложки из полиметилметакрилата с помощью микропипетки (10 мкл). Процесс сушки проходил при температуре 20–25 °С и относительной влажности воздуха 60–65 % в течение 90–120 минут. Для получения снимков использовали оптический микроскоп Биолам (Россия) со светодиодной подсветкой и веб-камерой (окуляр 9x, объектив 15x). Все исследования по изучению морфологии плазмы крови проводили в идентичных условиях при использовании одного и того же материала подложки и режима высушивания капель плазмы крови [1, 10, 14, 15, 19, 21, 22].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Для оценки комплексной терапии проведен анализ про-, антиоксидантных показателей в крови 23 пациентов с ТИА основной группы на момент госпитализации и после применения СТ в сочетании с ВЛОК в сравнении с данными здоровых лиц (таблица 1).

Таблица 1. Про- антиоксидантное состояние крови у пациентов основной группы до и после комплексной терапии и здоровых лиц

Показатель	Основная группа, n = 23		Здоровые лица, n = 20
	до комплексной терапии	после комплексной терапии	
ТБК-П, мкмоль/л	2,5 (2,0–3,0) p = 0,03	2,3 (1,6–3,1)	2,08 (1,8–2,7)
СОД, Е/мл	80,5 (59,0–97,4) p = 0,0001	105,1 (80,3–163,0) p* = 0,003	106,3 (92,9–117,6)
Каталаза, усл. ед./с·мл	33,0 (14,4–70,8)	15,6 (11,4–25,8) p* = 0,04	18,6 (13,2–28,8)
АОА, ммоль/л	2,4 (1,9–2,8)	2,4 (2,0–2,6)	2,11 (1,87–2,56)

Примечание: здесь и в таблице 2 – p – достоверность различий относительно данных здоровых лиц (U-критерий Манна-Уитни); p* – достоверность различий относительно данных до лечения (Т-критерий Уилкоксона)

У пациентов с ТИА основной группы на момент госпитализации установлена активация реакций ПОЛ с повышением содержания ТБК-П на фоне сниженной активности СОД на 24 % и высокой активности каталазы по сравнению с данными здоровых лиц, что

свидетельствует о наличии дисбаланса в ферментной антиоксидантной системе (АОС) и недостаточной защите клеток от воздействия свободных радикалов, обусловленной, в частности, ростом содержания ТБК-П – наиболее реакционноспособного из вторичных продуктов ПОЛ, способствующих деформации и повышению проницаемости мембран.

Анализ полученных результатов после лечения показал позитивный эффект СТ в сочетании с ВЛОК, проявляющийся устранением про- антиоксидантного дисбаланса с повышением активности СОД, а также нормализацией активности каталазы.

В таблице 2 представлены про-, антиоксидантные показатели 28 пациентов контрольной группы на момент госпитализации и после применения СТ в сравнении с данными здоровых лиц.

У пациентов контрольной группы на момент госпитализации выявлено значительное повышение активности каталазы и уменьшение активности СОД. После курса проводимой терапии происходит нормализация активности каталазы при уменьшении содержания ТБК-П.

Таблица 2. Про- антиоксидантное состояние крови у пациентов контрольной группы и здоровых лиц на до и после СТ

Показатель	Контрольная группа, n = 28		Здоровые лица, n = 20
	до СТ	после СТ	
ТБК-П, мкмоль/л	2,23 (1,77–2,69)	1,89 (1,38–2,31) <i>p</i> * = 0,036	2,08 (1,8–2,7)
СОД, Е/мл	79,0 (56,0–89,6) <i>p</i> = 0,0008	84,5 (67,5–108,0)	106,3 (92,9–117,6)
Каталаза, усл. ед./с·мл	78,0 (33,6–105,6) <i>p</i> = 0,00013	19,2 (12,0–45,6) <i>p</i> * = 0,0008	18,6 (13,2–28,8)
АОА, ммоль/л	2,03 (1,82–2,55)	2,25 (1,89–2,48)	2,11 (1,87–2,56)

Анализ АОА сыворотки крови у пациентов с ТИА обеих групп до и после лечения не выявил достоверной разницы по сравнению с данными здоровых лиц.

Проведен сравнительный анализ показателей про- антиоксидантной системы у пациентов с ТИА после СТ и комплексного лечения, включающего ВЛОК: курсовое лечение, включающее ВЛОК, способствует большему повышению активности СОД у пациентов с ТИА по сравнению с контрольной группой (*p* = 0,02). У пациентов обеих групп установлено уменьшение выраженности ферментативного дисбаланса в АОС (таблицы 1, 2).

Проведена оценка динамики состояния сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза у пациентов с ТИА под влиянием лазерной гемотерапии. В таблице 3 представлены параметры первичного тромбоцитарного гемостаза у пациентов с ТИА основной группы до и после комплексного лечения с ВЛОК в сравнении с данными здоровых лиц. Колебания уровня тромбоцитов в крови в сравнении с нормой не имели статистической достоверности во всех сроках наблюдения.

Таблица 3. Параметры тромбоцитарного гемостаза у пациентов основной группы до и после СТ

Параметры	Основная группа, n = 20		Здоровые лица, n = 16
	до комплексной терапии	после комплексной терапии	
Скорость, %/мин	12,7 (8,6; 17,1)*	10,5 (5,2; 14,9)*, **	19,1 (17,2; 24,6)
Степень, %	131,3 (63,0; 158,5)*	89,4 (36,5; 116,8)*, **	158,8 (131,6; 171,3)
AUC, U	476,5 (300,2; 730,2)*	392,0 (170,0; 526,0)*, **	903,5 (731,5; 971,5)

Примечание: здесь и в таблице 4 **p* < 0,05 – статистически значимая разница между данными группы здоровых лиц и группы наблюдения; ***p* < 0,05 – статистически значимая разница между данными в группе наблюдения до и после лечения

Использование индуктора арахидоновой кислоты при ИАТ позволило выявить гипоагрегацию тромбоцитов у пациентов до и после лечения по сравнению с нормальными данными (рисунок 1), а также внутригрупповые различия. После комплексной терапии зафиксировано выраженное снижение всех параметров агрегаторограммы, соответственно, в 1,2, 1,5 и 1,2 раза, что свидетельствует о снижении тромбогенного потенциала крови за счет синергичности действия антиагрегантов и лазерной гемотерапии у пациентов с ТИА в сочетании с различной коморбидной патологией, в том числе ХИМ.

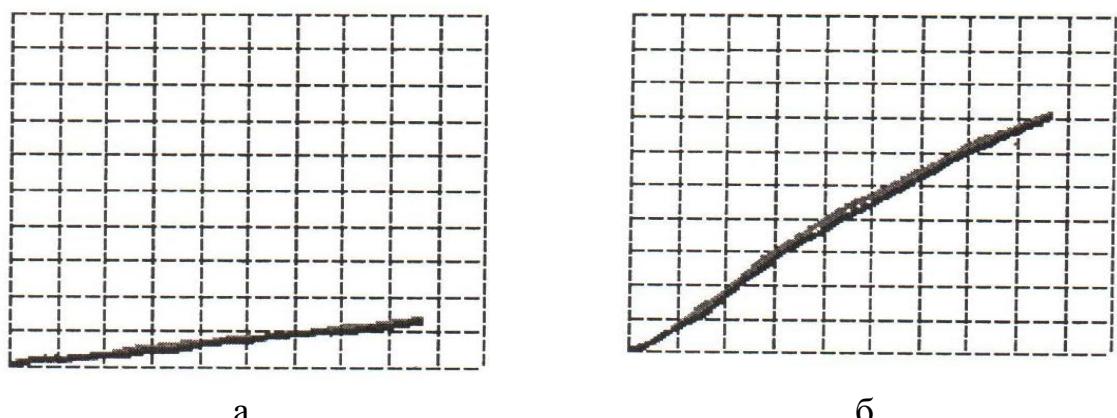


Рисунок 1. Пример арахидонат-индуцированной агрегаторограммы тромбоцитов с гипоагрегационным уровнем параметров у пациентов в основной группе после лечения (а) и нормальной арахидонат-индуцированной агрегаторограммы тромбоцитов (б)

В таблице 4 представлены параметры первичного тромбоцитарного гемостаза у пациентов с ТИА контрольной группы до и после СТ в сравнении с нормальными данными. Колебания уровня тромбоцитов в крови в сравнении с нормой не имели статистической достоверности во всех сроках наблюдения. При использовании индуктора арахидоновой кислоты зафиксирована гипоагрегация тромбоцитов по всем изучаемым параметрам в сравнении с нормой как до, так и после лечения, что сопоставимо с данными, полученными в основной группе и свидетельствует о терапевтической эффективности препаратов на основе ацетилсалициловой кислоты (АСК) при хронической сосудистой патологии. Однако в данной группе наблюдения не зафиксировано внутригрупповое снижение параметров ИАТ в динамике лечения, что свидетельствует об умеренной терапевтической эффективности унифицированного лечения.

Таблица 4. Параметры тромбоцитарного гемостаза у пациентов контрольной группы до и после СТ

Параметры	Контрольная группа, n = 28		Здоровые лица, n = 16
	до СТ	после СТ	
Скорость, %/мин	10,3 (6,5; 16,5)	10,7 (6,5; 15,7)	19,1 (17,2; 24,6)
Степень, %	107,3 (60,3; 157,3)*	104,4 (55,2; 130,1)*	158,8 (131,6; 171,3)
AUC, U	440,1 (290,0; 621,0)*	461,0 (288,5; 630,0)*	903,5 (731,5; 971,5)

В таблице 5 представлены результаты исследования содержания ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1). До лечения пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по содержанию PAI-1 в крови, в то же время прослеживалось значимое превышение уровней исследуемого показателя в сравнении с таковым у здоровых лиц. После курса терапии в основной группе с ВЛОК содержание PAI-1 в крови пациентов было достоверно ниже в 1,7 раза исходного уровня, $p = 0,029$ и не отличалось от нормального значения. У пациентов контрольной группы после курса СТ отличие с изначально повышенным уровнем PAI-1 до лечения отсутствовало, как и разница с нормальными

значениями, что указывает на недостаточную эффективность коррекции активности антифибринолитического агента и возможное развитие гипофибринолиза.

Таблица 5. Содержание PAI-1 у здоровых лиц и пациентов основной и контрольной групп, Ме и квартили

Показатель	Здоровые лица	Основная группа		Контрольная группа	
		до комплексной терапии	после комплексной терапии	до СТ	после СТ
PAI-1, нг/мл	2,72 (1,35–4,31)	4,25 (3,76–5,65)*	2,49 (1,41–3,33)**, ***	4,17 (3,85–5,29)*	3,48 (2,72–4,64)

Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимая разница между данными группы здоровых лиц и группы наблюдения; ** $p < 0,05$ – статистически значимая разница между данными в группе наблюдения до и после лечения; *** $p < 0,05$ – статистически значимая разница между данными в основной и контрольной группах

Для определения эффективности проводимой комплексной терапии у пациентов с ТИА двух групп проведена оценка диагностической значимости определения PAI-1 в крови с помощью ROC-анализа, результаты которого отражены в таблице 6. С помощью построения характеристической ROC-кривой, представленной на рисунке 2, установлен пороговый уровень содержания PAI-1 в крови пациентов с ТИА, превышение которого сопряжено с недостаточной эффективностью проводимой терапии.

Так, пороговая точка концентрации PAI-1 составила 3,26 нг/мл при AUC ROC-кривой $0,74 \pm 0,08$ (ДИ 0,58–0,91; $p < 0,01$), что позволяет расценивать исследуемый показатель в качестве классификатора эффективности проводимой терапии при ТИА. Диагностическая чувствительность метода (применительно к данному параметру) составила 100,0 %, диагностическая специфичность – 58,0 %.

Таблица 6. Характеристики ROC-кривой диагностической эффективности содержания PAI-1 у пациентов основной группы

Показатель	Площадь под кривой (AUC)	95 % доверительный интервал	Величина cut off (пороговый уровень)	ДЧ	ДС	р
PAI-1	$0,74 \pm 0,08$	0,58–0,91	3,26 нг/мл	100,0 %	58,0 %	<0,001

Примечание: ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС - диагностическая специфичность

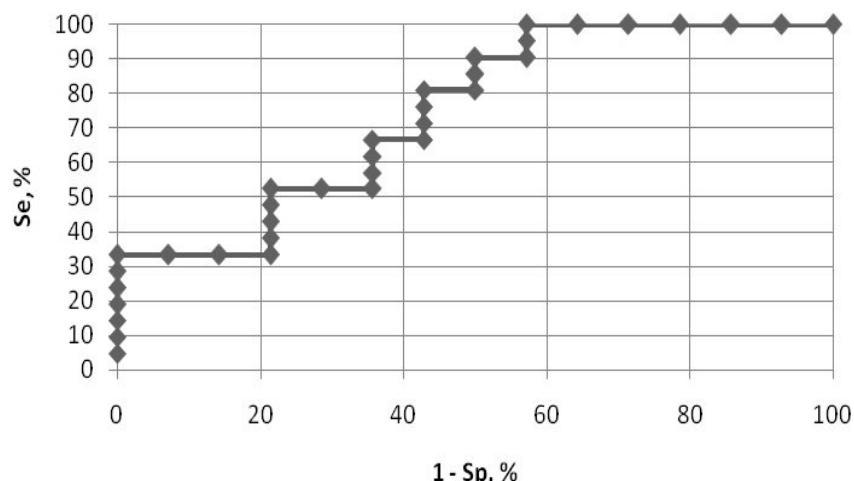


Рисунок 2. Характеристическая кривая диагностической эффективности концентрации PAI-1 в крови пациентов с ТИА после стандартной терапии в сочетании с ВЛОК

В доступной научной литературе не обнаружено сведений, указывающих на влияние ВЛОК на концентрацию PAI-1 в плазме крови при какой-либо патологии. В то же время известно, что ВЛОК оказывает нормализующее действие на агрегационную способность тромбоцитов, а также на антиагрегационные свойства, антикоагулянтную и фибринолитическую активность сосудистой стенки у больных стабильной стенокардией [4], при ишемической болезни сердца с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа [2].

Следовательно, впервые установлен факт повышения концентрации PAI-1 у пациентов с ТИА. Кроме того, определен пороговый уровень содержания PAI-1 в плазме крови, характеризующий эффективность проводимой терапии ТИА, превышение которого сопряжено с недостаточной эффективностью лечения.

Таким образом, у пациентов основной и контрольной групп выявлены нарушения в работе ферментативного звена АОС на фоне повышения ТБК-П, более выраженного у пациентов основной группы. Данные изменения свидетельствуют о развитии окислительного стресса у пациентов с ТИА, являющегося одним из важнейших патогенетических звеньев поражений ЦНС. В основной группе при включении в терапию ВЛОК, нормализация данных показателей происходит эффективнее на фоне улучшения клинического состояния пациентов. Это обусловлено влиянием на различные уровни регуляции и поддержания гомеостаза в организме. Системный и многофакторный терапевтический эффект НИЛИ обусловлен его фотоактивирующими и нормализующими действиями на активность важнейших ферментов метаболизма, биосинтез белков, ДНК, РНК, регенерацию тканей, состояние иммунной системы и микрогемоциркуляцию. Положительное влияние ВЛОК практически на все функциональные системы организма обусловлено улучшением микроциркуляции во всех структурах ЦНС, и особенно в гипоталамусе, который обладает самой развитой сосудистой сетью. В связи с этим ВЛОК стимулирует функции гипоталамуса и всей лимбической системы, чем и достигается активация обмена веществ, иммунных и вегетативных реакций, мобилизация адаптационных резервов организма. Внутривенное лазерное облучение крови оказывает позитивное влияние на функциональную активность эндотелиальных структур за счет стимуляции гуанилаткиназы и NO-синтазы, которые, по-видимому, являются первичными акцепторами лазерного излучения. При цереброваскулярных заболеваниях, вызванных атеросклерозом и АГ, развивается выраженная эндотелиальная дисфункция, тогда как лазерная гемотерапия приводит к вазодилатации, нормализации простациклин-тромбоксанового баланса и восстановлению агрегабиогенности сосудистой стенки [18, 19, 26].

Метод клиновидной дегидратации обладает рядом достоинств для диагностики различных заболеваний человека, а также на доклинической стадии, так как при развитии патологического процесса характерно изменение кристаллизации солей в БЖ, которые могут выпадать в виде зерен, образовывать дендриты. В последнее время данный метод диагностики показал изменения структуры дегидратирующих капель в сыворотке крови при экспериментальной гипоксии головного мозга [10, 22].

Для оценки изменений морфологии дегидратирующих капель плазмы крови при различных патологических состояниях в научной литературе используют визуальную оценку имеющихся нарушений с описанием различных типов трещин, «дендритного рисунка», токсических включений, симметричности фации, наиболее часто употребляемых терминологически [10, 14, 15, 21].

Представлены образцы плазмы крови здорового человека, где растрескивание носит регулярный характер: трещины располагаются на приблизительно равном расстоянии, фация симметрична (рисунок 3). При дегидратации капли белковая часть плазмы находится по периферии капли, в центральной зоне определяются соли. В то же время растрескивание в плазме крови больного человека носит хаотический характер и имеет ряд особенностей, зависящих от патологического состояния.

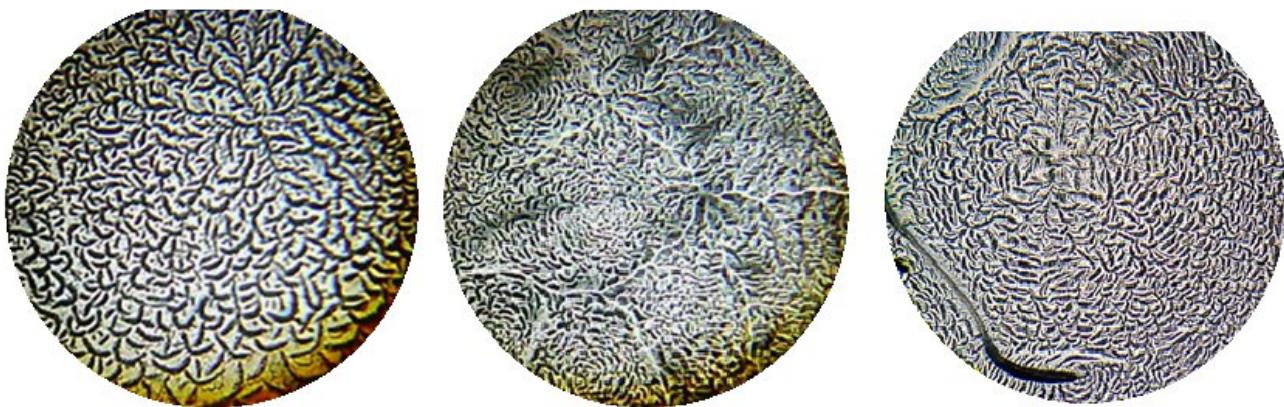


Рисунок 3. Морфологическая структура фаций дегидратирующей капли плазмы крови здоровых лиц (увеличение $\times 135$)

Морфологическая структура дегидратирующих капель плазмы крови была изучены у 10 пациентов основной группы, средний возраст которых составил $59,8 \pm 6,6$ лет. У восьми пациентов в качестве сопутствующего диагноза установлены ИБС, кардиосклероз и атеросклероз аорты.

У всех пациентов с ТИА до лечения наблюдалось изменение морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы. Наиболее часто у пациентов с ТИА определяются широкие трещины, которые свидетельствуют о склеротических изменениях; выявляется дендритный рисунок, образующийся вследствие вытеснения в верхний слой дегидратирующих капель плазмы кровь солевых структур.

В качестве примера морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови на рисунке 4 представлен результат, полученный у пациента Д.

Пациент Д.: женщина, 54 года. Основной диагноз: ТИА. Сопутствующий диагноз: ИБС, кардиосклероз, атеросклероз коронарных артерий, экстрасистолия, АГ 2, риск 4.

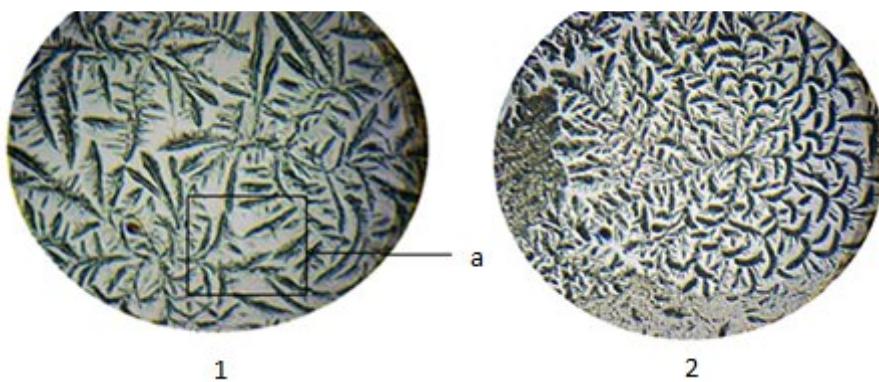


Рисунок 4. Морфология фаций дегидратирующей капли плазмы крови пациента Д. на момент госпитализации (1) и после курсового лечения с применением ВЛОК (2), увеличение $\times 135$, а – дендритный рисунок

После курсового лечения, включающего ВЛОК у пациентов основной группы наблюдается тенденция к нормализации морфоструктуры дегидратирующих капель почти в 80 % случаев с доминированием мелкочаечистого растрескивания. У пациента Д. после лечения наблюдается симметричное мелкочаечистое растрескивание дегидратирующей капли плазмы крови (рисунок 4).

Изучена морфология дегидратирующих капель плазмы у 8 пациентов с ТИА контрольной группы. Средний возраст составил $59,0 \pm 17,6$ лет. В качестве сопутствующего диагноза у 7-ми пациентов выявленна ИБС, у 6 установлены кардиосклероз и атеросклероз аорты, у 5 – артериальная гипертензия.

До проведения СТ в дегидратирующих каплях плазмы пациентов контрольной группы отмечаются морщины (складчатости), которые отражают локальное смещение рельефа фации с образованием параллельных складок на её поверхности. Имеются трехлучевые трещины, которые служат признаком застойных явлений в организме, в том числе в тканях головного мозга [14].

В качестве примера морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови на рисунке 5 представлен результат, полученный в капле у пациента П. до и после курсового лечения.

Пациент П.: женщина, 59 лет. Основной диагноз: ТИА. Сопутствующий диагноз: ИБС, стенокардия напряжения, кардиосклероз, атеросклероз аорты, АГ, дислипидемия.

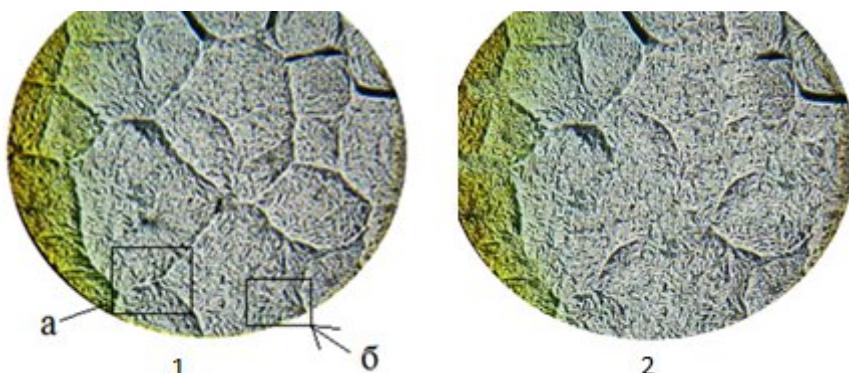


Рисунок 5. Морфология фаций дегидратирующей капли плазмы крови пациента П. на момент госпитализации (1) и после лечения (2), увеличение $\times 135$, а – трехлучевые трещины; б – складчатости

После курса СТ происходит незначительное улучшение морфологии капель плазмы, менее выраженное, чем у пациентов основной группы (рисунок 5).

При отсутствии унифицированных методов обработки морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови, нами была предложена собственная классификация патологических изменений с целью объективизации полученных изменений. Результаты наших исследований позволили классифицировать нарушения морфоструктуры дегидратирующих капель плазмы крови у пациентов с нарушениями мозгового кровообращения по следующим патологическим признакам, представленным в таблице 7.

Таблица 7. Классификация патологических изменений, возникающих в дегидратирующих каплях плазмы крови

№ п/п	1	2	3	4
Признак	Трещины: А. широкие; Б. жгутовые; В. трехлучевые.	Дендритный рисунок	Складчатости («морщины»)	Токсические включения

Анализ полученных результатов представлен в таблицах 5–8, отражающих процентное количество наблюдаемых нами изменений морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы у пациентов с ТИА обеих групп.

У 9 пациентов основной группы до комплексной терапии наблюдалось наличие различных типов трещин, общее количество которых составило 45 (100 %). После применения ВЛОК в сочетании со СТ трещины наблюдались у 4 пациентов ($\chi^2 = 0,27$; $p = 0,0000$) и общее их количество снизилось до 11 (24 %) ($\chi^2 = 0,61$; $p = 0,0000$). Токсические включения определялись до лечения у 8 пациентов, общее количество составило 46 (100 %). После лечения данный признак был выявлен у 7 пациентов ($\chi^2 = 0,01$; $p = 0,07$), общее количество – 19 (41 %) ($\chi^2 = 0,64$; $p = 0,0000$) (таблица 8).

Таблица 8. Распределение качественных признаков морфологических изменений дегидратирующих капель плазмы и количество пациентов основной группы с изменениями морфоструктуры до и после комплексной терапии

Признак	Основная группа		Статистическая значимость различий
	до комплексной терапии	после комплексной терапии	
Общее число патологических признаков 1-3 (см.табл.7), %	100	24	$\chi^2 = 0,61$ $p = 0,0000$
Токсические включения, %	100	41	$\chi^2 = 0,64$ $p = 0,0000$
Количество пациентов с выявленными трещинами, %	90	40	$\chi^2 = 0,27$ $p = 0,0000$
Количество пациентов с токсическими включениями, %	80	70	$\chi^2 = 0,01$ $p = 0,07$

Трещины различного происхождения и токсические включения у пациентов контрольной группы были выявлены до СТ в 7 случаях (100 %), после лечения в 6 (83 %) ($\chi^2 = 0,02$; $p = 0,02$). Общее количество трещин после лечения снизилось на 17 % ($\chi^2 = 0,09$; $p = 0,0000$), токсических включений – на 36 % ($\chi^2 = 0,22$; $p = 0,0000$) (таблица 9).

Таблица 9. Распределение качественных признаков морфологических изменений дегидратирующих капель плазмы и количество пациентов контрольной группы с изменениями морфоструктуры до и после СТ

Признак	Контрольная группа		Статистическая значимость различий
	до СТ	после СТ	
Общее число патологических признаков 1-3 (см.табл.7), %	100	83	$\chi^2 = 0,09$ $p = 0,0000$
Токсические включения, %	100	64	$\chi^2 = 0,22$ $p = 0,0000$
Количество пациентов с выявленными трещинами, %	87,5	75	$\chi^2 = 0,02$ $p = 0,02$
Количество пациентов с токсическими включениями, %	87,5	75	$\chi^2 = 0,02$ $p = 0,02$

У 70 % пациентов основной группы наблюдается снижение количества трещин в морфологической структуре дегидратирующих капель плазмы крови при применении ВЛОК в сочетании со СТ. Данный показатель у них достоверно выше, чем у пациентов контрольной группы ($\chi^2 = 7,52$; $p = 0,006$). Проведенный анализ позволяет сделать вывод, что применение ВЛОК в составе комплексной терапии более эффективно влияет на снижение числа изменений морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови пациентов с ТИА.

Заключение. Включение ВЛОК в состав комплексной терапии при ТИА оказывает нормализующее влияние на активность СОД и каталазы у пациентов основной группы после лечения. В контрольной группе применение СТ также способствует устраниению ферментного дисбаланса в крови, однако активность СОД в основной группе превышает значения в контрольной группе, что свидетельствует о более эффективной коррекции изученных показателей антиоксидантной системы при использовании ВЛОК.

Продемонстрирована эффективность комплексной терапии с ВЛОК пациентов с ТИА, в результате которой установлено потенцирование антиагрегантного действия препаратов ацетилсалициловой кислоты при арахидонат-индуцированной агрегатометрии тромбоцитов, нормализация содержания PAI-1 в сравнении с уровнями таковых у пациентов, получавших только СТ. Определена пороговая точка концентрации PAI-1, позволяющая расценивать

исследуемый показатель в качестве классификатора эффективности проводимой терапии при ТИА, превышение которого сопряжено с её недостаточной эффективностью.

Также ВЛОК в составе комплексной терапии способствует снижению количества структурных изменений в дегидратирующих каплях плазмы крови у 70 % пациентов основной группы, что достоверно выше аналогичного показателя у пациентов контрольной группы, составившего 50 % ($\chi^2 = 7,52; p = 0,006$).

Литература:

- [1]. Булоичик Ж.И., Зажогин А.П., Нечипуренко Н.И. и др. Морфологическое и спектрофотометрическое исследование плазмы крови пациентов с аневризмой сосудов головного мозга // Журнал БГУ. Физика. 2018. № 1. С. 9–17.
- [2]. Бурдули Н.М., Кехоева А.Ю. Влияние лазерного излучения на микроциркуляцию, агрегацию тромбоцитов и эритроцитов крови больных ишемической болезнью сердца с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 27. № 3. С. 29–30.
- [3]. Волотовская А.В., Слобожанина Е.И., Улащик В.С. Мембраноклеточные эффекты лазерного облучения крови // Лазерная медицина. 2005. № 1. С. 4–9.
- [4]. Газданова, А.А. Влияние лазерной терапии на функцию эндотелия, микроциркуляцию и некоторые показатели гемореологии у больных стабильной стенокардией // автореф. ... канд. мед. наук. Владикавказ, 2009. 21 с.
- [5]. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328 с.
- [6]. Девятков Н.Д., Зубкова С.М., Лапрун И.Б. и др. Физико-химические механизмы биологического действия лазерного излучения // Успехи совр. биологии. 1987. № 1. С. 31–43.
- [7]. Залесская Г.А. Фотомодификация крови терапевтическими дозами оптического излучения. Минск: Беларусская наука, 2014. 198 с.
- [8]. Захаров А.И. Внутривенное гелий-неоновое облучение крови инфракрасной частью спектра у детей с перитонитом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа: Казан. гос. мед. ун-т МЗ РФ. 1999. 21 с.
- [9]. Захарова Г.П., Шабалин В.В., Донская О.С. Функциональная морфология как основа системного подхода к исследованию биологических жидкостей // РМЖ. Оториноларингология. 2017. № 6. С. 430–434.
- [10]. Канаева Е.С. и др. Исследование морфологии сыворотки крови и состояния гомеостаза крыс на фоне острой гипоксии разного генеза при применении антигипоксантов // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье. 2025. № 1. С. 13–21.
- [11]. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова Л.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.
- [12]. Костюк В.А., Потапович А.И. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях // Вопр. мед. химии. 1987. № 3. С. 115–118.
- [13]. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. 1990. Т. 36, № 2. С. 88–91.
- [14]. Краевой С.А., Колтовой Н.А. Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей. Книга 1. Смоленск, 2016. 320 с.
- [15]. Маслова Г.Т. и др. Использование морфоструктурного анализа и лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии для диагностики рака простаты // Доклады БГУИР. 2016. № 7. С. 192–196.
- [16]. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. М.: Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. 896 с.
- [17]. Нечипуренко Н.И. и др. Транзиторные ишемические атаки: частные вопросы этиопатогенеза, диагностики, клиники, лечения // Мед. новости. 2018. № 1. С. 3–8.
- [18]. Нечипуренко Н.И., Степанова Ю.И., Василевская Л.А. и др. Лазерная гемотерапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях (экспериментальные и клинические аспекты). Под ред. Н.И. Нечипуренко. Минск: Бизнесофтсэт. 2010. 192 с.
- [19]. Поддубная О.А. Низкоинтенсивная лазеротерапия в клинической практике (часть 1) // Вестник восстановительной медицины. 2020. № 6. С. 92–99.
- [20]. Харанжевский Е.В., Кривилёв М.Д. Физика лазеров, лазерные технологии и методы математического моделирования лазерного воздействия на вещество. Ижевск, 2011. 187 с.

- [21]. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом, 2001. 302 с.
- [22]. Шатохина С.Н. и др. Структуры сыворотки крови в интегральной оценке патофизиологических изменений при экспериментальной ишемии головного мозга// Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016. № 4. С.168–173.
- [23]. Amajadi A., Mirmiranpour H., Sobhani S.O. et al. Intravenous laser wavelength radiation effect on LCAT, PON1, catalase, and FRAP in diabetic rats // Laser in medical science. 2020. №1. P.131–138.
- [24]. Martirosyan D., Ashoori M.R., Mirmiranpour H. The effects of low level-laser irradiation on antioxidant enzymes and mineral levels in serum of patients with type 2 diabetes mellitus // Bioactive Compounds in Health and Disease. 2020. № 3. P. 82–89.
- [25]. Mirmiranpour H., Nosrati F.S., Sobhani S.O. et al. Effects of low-level laser irradiations on the function glycated catalase // J Lasers Med Sci. 2018. Vol. 9. № 3. P. 212.
- [26]. Mittermayr R. et al. Blue laser light increases perfusion of a skin flap via release of nitric oxide from hemoglobin // Mol. Med. 2007. №13. P. 22–29.

T. A. PRAKAPENKA, N. I. NECHIPURENKO, I. D. PASHKOUSKAYA

INFLUENCE OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION ON THE STATE OF PRO-ANTIOXIDANT BALANCE, PRIMARY HEMOSTASIS SYSTEM AND BLOOD MORPHOLOGY IN TRANSIENT ISCHEMIC ATTACK

*State Institution “Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery”,
Minsk, Republic of Belarus*

Summary

The article presents current information on the pathophysiological and pathobiochemical mechanisms of development and diagnostic methods of transient ischemic attack (TIA). Various hypotheses of interaction of laser radiation with biological systems are considered. The results of studying some indices of pro-antioxidant system, primary hemostasis, plasminogen activator inhibitor type 1 and morphology of dehydrating drops of blood plasma in patients with TIA are presented.

Keywords: transient ischemic attack, lipid peroxidation, hemostasis, morphology of dehydrating drops of blood plasma, intravenous laser irradiation of blood.