

УДК 616–006.311–0.85:612.017.1–053.2/5

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ И ИНТЕГРАТИВНЫЕ РЕАКЦИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С СОСУДИСТОЙ ОПУХОЛЬЮ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Шейко Е.А., Шихлярова Е.И., Кузнецов С.А.

ФГБУ «Ростовский НИИ Онкологический институт» МЗ России, Ростов-на-Дону,  
e-mail: rnioi@list.ru

В основу клинического исследования положены наблюдения за 2015 пациентов с врожденными гемангиомами кожи и мягких тканей. Изучали показатели неспецифических адаптационных реакций у всех детей, учитывали результаты фотоиндуцированной регрессии гемангиом. С помощью низкоинтенсивного оптического излучения удалось добиться повышения у больных детей уровня неспецифической резистентности за счет формирования благоприятных неспецифических адаптационных реакций антистрессорного типа и получить регресс гемангиом, что указывает на интегративное влияние этого воздействия. У 10 практически здоровых и 20 детей с гемангиомами проведено исследование нейтрофильных гранулоцитов крови с помощью лизосомально-катионного теста. Было показано, что под влиянием низкоинтенсивного оптического излучения красного спектра происходит увеличение функционального потенциала нейтрофилов крови, на что указывало увеличение показателей лизосомально-катионного теста и числа клеток с высоким содержанием катионных белков.

**Ключевые слова:** низкоинтенсивное оптическое излучение, нейтрофилы периферической крови, катионные белки, антистрессорные реакции

## FUNCTIONAL POTENTIAL OF NEUTROPHIL GRANULES AND INTEGRATIVE REACTION IN CHILDREN OF EARLY AGE WITH VASCULAR TUMOR UNDER THE ACTION OF LOW-INTENSITY OPTICAL RADIATION

Sheiko E.A., Shikhlyarova A.I., Kuznetsov S.A.

Rostov Scientific Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don,  
e-mail: rnioi@list.ru

The basis of clinical research is based on observations for 2015 patients with congenital hemangiomas of the skin and soft tissues. The indicators of nonspecific adaptation reactions in all children took into account the results of the photoinduced regression of hemangiomas has been studied. Using low-intensity optical radiation failed to increase the patients level of nonspecific resistance by forming favorable non-specific adaptive reactions of the type anti-stress and get regress of hemangiomas, which indicates the integrative impact of this exposure. Lysosomal-cationic test was carried out in 10 healthy and 20 children with hemangiomas. It was shown that under the influence of low-intensity optical radiation of the red spectrum there is an increase in the functional capacities of blood neutrophils, as indicated by the increase in lysosomal-cation test and the number of cells with a high content of cationic proteins.

**Keywords:** low-intensity optical radiation, peripheral blood neutrophils, and cationic proteins and antistress reactions

Первый опыт применения селективной светодиодной монохромтерапии с излучением красного спектра в лечении осложненных гемангиом у детей демонстрирует, что низкоинтенсивное оптическое излучение в этом диапазоне – фотохромтерапия (ФХТ) не только в короткие сроки ликвидирует экссудативную фазу воспаления и способствует быстрой регенерации эпителия, вызывает фотоиндуцированный регресс сосудистых новообразований, но и выступает в качестве стимуляторов функций неспецифической защиты больного ребенка [7]. Такое влияние осуществляется как на уровне высших интегративных систем организма, так и на уровне клеточных и субклеточных структур [5,6,7]. Целью данной работы является изучение возможности индукции антистрессорных АР у детей с сосудистыми опухолями под дей-

ствием монохромного красного света. Кроме того, все еще остаются неясными механизмы стимулирующего влияния фотохромтерапии на нейтрофилы крови как важного фактора клеточного звена естественной неспецифической резистентности организма. Известно, что роль нейтрофильных гранулоцитов определяется не только их уровнем в циркулирующей крови, но и функциональной активностью, представляет интерес изучение функционального потенциала нейтрофилов крови, ведущим фактором, обеспечивающим этот потенциал, являются катионные белки [3,10,11,12].

В связи с этим, задачей нашего исследования также стало изучение содержания катионных белков у детей с осложненными формами гемангиом до и на разных сроках фотохромтерапии.

### Материалы и методы исследования

В основу клинического исследования положены наблюдения за 2015г вошло 50 пациентов с врожденными гемангиомами кожи и мягких тканей. Возраст детей составил от 3 до 6 месяцев. Контрольную группу составили практически здоровые дети этого же возраста. (10 человек). Всем детям с гемангиомами проведено лечения по методу ФХТ [7]. Изучали показатели неспецифических адаптационных реакций у всех детей [1], непосредственных результатов фотондуцированной регрессии гемангиом.

В нейтрофильных гранулоцитах периферической крови здоровых детей (n=10) и детей с гемангиомами (n=20) до лечения и на его этапах проводили цитохимическое исследование катионных белков (КБ) с помощью лизосомально-катионного теста (ЛКТ). Для этого в препаратах крови, окрашенных прочным зеленым и азуром А определяли средний цитохимический коэффициент (ЦХК) в зрелых нейтрофилах крови. В каждом препарате подсчитывали не менее 100 клеток. ЦХК определяли по формуле Астольди и Верга [2]. Для определения ЛКТ изготавливали препараты крови до лечения, после 1 курса, после 2 курса, после т 3 курса ФХТ и через пол года после выздоровления. Статистическую обработку проводили с помощью t критерия Стьюдента.

### Результаты исследования и их обсуждение

Данные проведенных исследований свидетельствовали, что воздействие ФХТ оказывало выраженное влияние на показатели ЛКТ нейтрофильных гранулоцитов крови детей с осложненными формами гемангиом. Об этом свидетельствовали значения ЦХК, представленные в табл. 1. Как следует из этой таблицы показатели ЦХК детей с осложненными гемангиомами до лечения в 1,6 раз ниже, чем эти показатели у здоровых детей (P<0,05). После воздействия ФХТ значения ЦХК увеличились и достоверно не отличались от показателей здоровых детей, причем высокие значения ЦХК сохранялись спустя пол года после завершения лечения ФХТ.

При анализе гистограмм распределения нейтрофилов крови в зависимости от содержания в них катионных белков на протяжении всех сроков наблюдения прослеживалась различная динамика перераспределения пулов нейтрофильных гранулоцитов по рангам [2,3]. В качестве иллюстрации приводим примеры гистограмм, отражающих распределение нейтрофилов в зависимости от содержания КБ у здоровых детей и больных детей гемангиомами до лечения (рис. 1) и гистограмм распределение нейтрофилов, отражающих распределение нейтрофилов в зависимости от содержания КБ на этапах лечения больных детей гемангиомами и через пол года после последнего курса ФХТ (рис. 2). Как видно из рисунка 1 у здоровых детей на гистограмме отмечается четкий сдвиг вправо, в то время как у больных детей до лечения отмечается резкий сдвиг влево. У здоровых детей такая форма гистограммы подтверждает присутствие в крови ребенка высокого процента нейтрофилов с высоким содержанием КБ, причем не было обнаружено клеток, в которых бы не содержались бы гранулы КБ. В крови больных гемангиомами детей напротив определялся очень высокий процент нейтрофилов не содержащих гранулы КБ и с единичными гранулами, форма гистограммы является тому подтверждением.

Как видно из рис. 2, уже после первого курса ФХТ во всех нейтрофилах определяются гранулы КБ, от курса к курсу ФХТ постепенно нарастает число клеток с высоким содержанием таких гранул. Через полгода сохраняется высокий процент клеток, содержащих большое число гранул КБ.

У всех детей в динамике исследовали показатели неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО), предложенные Л.Х. Гаркави и др.[1] и сопоставляли с нервно-психическим состоянием, с кли-

Таблица 1

Влияние ФХТ на показатели ЦХК в нейтрофилах периферической крови детей (M±m)

Показатели в у.е. n=100	Здоровые n=10	До лечения ФХТ n=20	После 1 курса ФХТ n=20	После 2 курса ФХТ n=20	После 3 курса ФХТ n=20	Через пол года после ФХТ n=20
ЦХК	2,76±0,12 <sup>1</sup>	1,67±0,2*	2,72±0,04 <sup>1</sup>	2,54±0,1 <sup>1</sup>	2,65±0,03 <sup>1</sup>	2,68±0,2 <sup>1</sup>

Примечание. \* – достоверно по отношению к здоровым P<0,05; <sup>1</sup> – достоверно по отношению к значениям до лечения P<0,05.

ническим течением заболевания: наличием болевого синдрома, изъязвлением и кровотечением с поверхности гемангиом, нарушением сна и аппетита. Учитывали также наличие у детей нарушений со стороны ЦНС (синдром гипервозбудимости, повышенная судорожная готовность, гипертензионный синдром). Оценка уровня неспецифической резистентности, сделанная после проведения последнего курса ФХТ, позволила перейти к следующим обобщениям.

В табл. 2 и 3 приведены данные, указывающие на изменения, происходящие в организме детей первого года жизни до и после ФХТ.

Как следует из этих таблиц, лечение ФХТ обладает гармонизирующим действием на показатели НАРО. Так, после воздействия ФХТ повышается гемоглобин, исчезает лейкоцитоз и эозинофилия, проходит токсогенная зернистость и анизохромия. Нормализуется общее состояние ребенка:

**Таблица 2**

Средние показатели НАРО у детей до года с гемангиомами до и после ФХТ

Показатели	Осложненные гемангиомы (n=50)	
	До ФХТ	После ФХТ
Гемоглобин, г/л	96±2,1	114±3,1*
Абс. число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	9,06±0,6	4,62±0,02*
Моноциты, %	2±0,02	8±0,2*
Эозинофилы, %	5±0,6	1±0,02*
Базофилы, %	1±0,02	0
Палочкоядерные нейтрофилы, %	8±0,4	2±0,01*
Сегментоядерные нейтрофилы, %	22±1,4	37±2,2*
Лимфоциты, %	62±2,2	53±0,4*
Токсогенная зернистость	+	-
Анизохромия	+	-

Примечание. \*при сравнении результатов до и после ФХТ при  $p < 0,05$ .

**Таблица 3**

Оценка состояния детей до года с гемангиомами до и после ФХТ

Показатели	Осложненные гемангиомы (n=50)	
	До ФХТ, %	После ФХТ, %
Болевой синдром	30±1,4	0
Нарушения аппетита	70±5,4	10±0,4*
Нарушения сна	85±2,2	5±0,2*
ЦНС статус-негативный	90±4,7	10±0,3*
ЦНС статус-позитивный	10±1,3	90±3,5*
Воспалительные отеки	25±0,8	3±0,1*
Изъязвления	95±11,2	0

Примечание. \*при сравнении результатов до и после ФХТ при  $p < 0,05$ .

исчезает болевой синдром, повышается аппетит, нормализуется сон, формируется позитивный статус ЦНС. Применение ФХТ позволило в короткие сроки (после 2–3 курса) купировать экссудативную фазу воспаления с последующей быстрой регенерацией эпителия, заживлением изъязвлений в 100% наблюдений.

В табл. 4 представлено количество детей в зависимости от характера НАРО до и после лечения ФХТ.

Известно, что при формировании в организме неспецифических адаптационных реакций антистрессорного типа под влиянием ФХТ происходит стимуляция компенсаторно-приспособительных процессов [1,5,7], что в свою очередь нашло подтверждение в наших исследованиях. Так, под влиянием ФХТ наблюдалось повышение средних значений ЦХК, увеличивался процент клеток с высоким содержанием КБ, что указывает на повышение функционального потенциа-

**Таблица 4**

Количество детей до года с гемангиомами в зависимости от характера неспецифической адаптационной реакции до и после ФХТ

Тип НАРО	Осложненные гемангиомы (n=50)			
	До ФХТ		После ФХТ	
	Абс. число	%	Абс. число	%
Переактивация	34	68*	7	14*
Повышенная активация	10	20*	38	76*
Активация	0	0		8
Тренировка	1	2*		2
Стресс	5	10*		0

Примечание. \*при сравнении результатов до и после ФХТ при  $p < 0,05$ .

Из табл. 4 следует, что только у малого числа детей (10%) с осложненными формами гемангиом, наблюдался стресс. Эта реакция развилась с элементами напряжения – либо с высоким уровнем эозинофилов, либо с моноцитозом, либо по обоим этим показателям. Переход к выздоровлению в результате эффективного лечения ФХТ происходил на фоне перехода в антистрессорные реакции, чаще в повышенную активацию. Обращало на себя внимание, что если до лечения ребенок находился в НАРО переактивация то после ФХТ в большинстве случаев, его НАРО становилась более гармоничная – повышенная активация или активация. У детей реакция повышенная активация развивается в процессе эффективного лечения чаще и быстрее, чем у взрослых, т.к. эта реакция присуща детскому возрасту первого года жизни.

Состояние ребенка также менялось в лучшую сторону, нормализовывался сон, аппетит, исчезали проблемы со стулом. Во время проведения курса ФХТ у детей активно прорезывались зубы, несколько опережая физиологическую норму. Отмечали усиление психоэмоционального развития детей: матери отмечали появление гуления, интерес к новым игрушкам, изменение социального поведения.

ла нейтрофилов периферической крови ребенка [4].

В литературе уже давно обсуждается вопрос об использовании показателей содержания катионных белков в нейтрофилах периферической крови, позволяющих оценивать состояние неспецифической защиты организма, тяжесть патологического процесса и антистрессорный эффект от различных факторов воздействия [8,9,10,11,12]. Известно, что на клеточном уровне антистрессорный потенциал во многом определяется не только уровнем содержания нейтрофилов в периферической крови, но и их функциональной активностью. Полученные нами данные, указывают на то, что ФХТ, вызывают у детей с гемангиомами активацию кислороднезависимых систем бактерицидности нейтрофилов, о чем свидетельствуют увеличение как количества клеток содержащих гранулы КБ, так и насыщенность нейтрофилов этими гранулами. В организме ребенка при этом отмечалось значительное повышение неспецифической резистентности, за счет формирования антистрессорных реакций при хорошем клиническом эффекте. Возможно, что именно таким образом ФХТ реализует один из механизмов своего воздействия на живой организм.

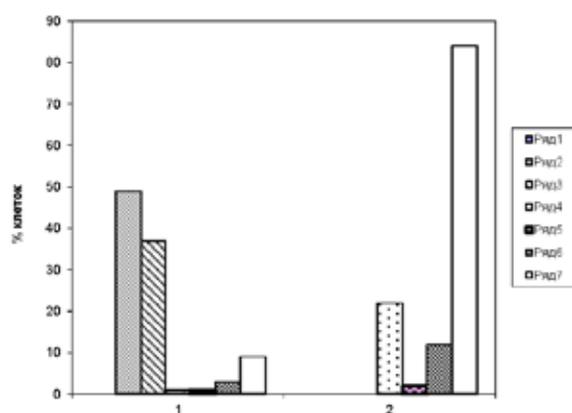


Рис. 1. Гистограмма распределения нейтрофилов крови в зависимости от содержания КБ в группе детей с гемангиомами до лечения (1) и у практически здоровых детей (2). По оси ординат – число нейтрофилов в %, по оси абсцисс – данные по рангам в зависимости от числа гранул с КБ (от 0 ряд 1 до максимальных значений ряд 7)

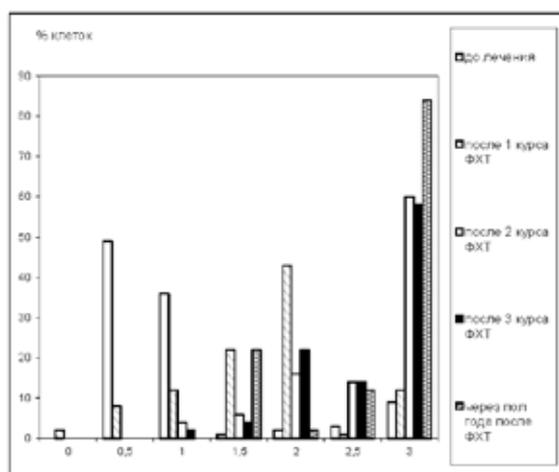


Рис. 2. Гистограмма распределения нейтрофилов периферической крови на этапах лечения по рангам. По оси ординат- число нейтрофилов в %, по оси абсцисс – данные на этапах лечения в зависимости от числа гранул с катионными белками в нейтрофилах

### Заклучение

Полученные результаты, позволяют заключить, что воздействия ФХТ на детей с гемангиомами сопровождается мобилизацией клеточного звена естественной резистентности организма, проявляющейся в увеличении числа нейтрофилов с более высоким уровнем содержания показателей. В тоже время, с помощью ФХТ удалось добиться повышения у больных детей уровня неспецифической резистентности за счет

формирования благоприятных неспецифических адаптационных реакций антистрессорного типа и получить регресс гемангиом, что указывает на интегративное влияние этого воздействия.

### Список литературы

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. – Екатеринбург, 2003.
2. Мазинг Ю.А. Функциональная морфология катионных белков лизосом нейтрофильных гранулоцитов // Вопр. мед. химии, 1990. – №6. – С.8–10.

3. Мазинг Ю.А. Нейтрофильные гранулоциты и система защиты организма // Архив патологии, 1991. – № 9. – С.70–73.
4. Шейко Е.А., Шихлярова А.И. Влияние НИЛО на функциональный потенциал нейтрофильных гранулоцитов крови животных с опухолями // Вопросы онкологии. – 2003. – Т.49, №1. – С. 76–80.
5. Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Иваненко Е.С. Влияние ФХТ на функциональный потенциал нейтрофильных гранулоцитов крови и адаптивный статус у детей с осложненными формами гемангиом // Вопросы онкологии. – 2006. – Т.52, №2. – С.155–158.
6. Шейко Е.А., Шихлярова А.И., Златник Е.А. и др. Электромагнитные колебания как фактор модулирующий функциональное состояние нейтрофилов крови // БЭБиМ. – 2004. – Т.137, №5. – С.569–572.
7. Шейко Е.А. Методы квантовой медицины в лечении сосудистых новообразований у детей раннего возраста // Модниковские чтения : тезисы н-пр. конференции. – Ульяновск: Изд. УГУ, 2011. – С.121–126.
8. Downey G.P., Fukushima T., Fialkow L. Signaling mechanisms in human neutrophils {Review} // Source Current Opinion in Hematology, 1995. – V.2, N1. – P.76–88.
9. Purification and antimicrobial properties of three defensins from rat neutrophils / P.B. Fisenhauer et al // Infect. Immun. – 1989. – V.57. – P.2021–2027.
10. Korneva H.E. Immunological and nonspecific mechanisms of host resistance and environment//4 Wold Cong. of Adaptic Medicine, India, 1995. – P.22.
11. Cationic antibiotic peptides in Immunity/ Korneva H.E. et al //The 1955 Int.Co-Conf. In Environ. Pollution (ICEP'95) and Neuroimun.Interact. and Envir. (ICJNE'95), St. Petersburg, Russia, 1995. – P.134.
12. Tal T., Sharabani m., Aviram I. Cationic proteins of neutrophil azurophilic granules: protein-protein interaction and blockade of NADPH oxidase activation // J. of Leukocyte Biology, 1998. – V.63, №3. – P.305–311.