

А.П. Веремейчик, В.С. Гайдук, В.В. Давыдов, В.Э. Бутвиловский

**Морфологические изменения кожи морских свинок при
аллергическом контактном дерматите и его лечении
низкоинтенсивным лазерным излучением**

Эксперимент проведен на 105 морских свинок. Модель экспериментального аллергического контактного дерматита (АКД) воспроизводилась по методике Залкан П.М.. Для лечения АКД использовали лазеротерапию, витамин Е и сочетание низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и витамина Е. На основании гистологических изменений кожи установлено, что совместное действие НИЛИ и витамина Е практически полностью восстанавливает структуру эпидермиса и дермы. Ключевые слова: экспериментальный аллергический контактный дерматит (АКД), низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), витамин Е, гистологические исследования кожи морских свинок.

Поиск новых методов лечения аллергических дерматозов остается актуальной проблемой дерматологии. В связи с увеличением числа пациентов, страдающих поливалентной аллергией, а так же с наличием категории больных, негативно относящихся к традиционной фармакотерапии, большое значение приобретает применение альтернативных методов лечения (различные виды свето-, магнито- и электротерапии) в сочетании с фармакотерапией.

В настоящее время в дерматологической практике все шире применяется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ). Известно, что лазерное излучение характеризуется такими свойствами как временная и пространственная когерентность, поляризованность, монохроматичность, плотность мощности и энергии излучения. Однако определяющей в фотобиоэффекте лазеров является временная когерентность. Монохроматичность - один из основных факторов, определяющих направление и интенсивность изменений в живых системах. Установлено, что с увеличением дозы излучения изменяется характер биоэффекта от стимулирующего до угнетающего и вплоть до летального исхода. Однако, при одной и той же дозе, но с увеличением плотности мощности и с уменьшением экспозиции усиливается фотобиоэффект и наоборот [5]. По сравнению с другими методами лазеротерапия приводит к раннему исчезновению болевого синдрома, быстрому развитию грануляции и эпителизации, что сопровождается длительной и стойкой ремиссией [7]. Первичные фотохимические реакции, обусловленные лазеротерапией, находят отражение в конечном фотобиологическом ответе на излучение, который проявляется в виде комплексной реакции организма.

Можно предположить, что существует общее звено в патогенезе всех нозологических форм заболеваний кожи, в терапии которых проявляется положительный эффект лазерного излучения. Это подразумевает наличие единого общего механизма действия НИЛИ применительно к различной патологии, а не множества разнообразных индивидуальных реакций для каждого конкретного заболевания [2]. Наиболее вероятно, что таким связующим звеном

является воспаление, которое встречается при всех аллергодерматозах, и либо играет роль ведущего звена патогенеза, либо носит реактивный характер.

Механизмы терапевтического действия НИЛИ на организм человека объяснены неполностью, так как не уточнена природа эндогенного хромофора лазерного излучения. Предполагается, что хромофорами НИЛИ являются эндогенные порфирины, которые способны поглощать свет в этой области спектра, и хорошо известны как фотосенсибилизаторы. Содержание порфиринов в организме увеличивается при многих заболеваниях человека. Мишенями лазерной энергии являются клетки, в частности, лейкоциты, липопротеины крови, содержащие порфирины [9]. В роли первичных акцепторов лазерного излучения так же могут выступать и пигментные клетки кожи.

Кожа является естественным барьером, препятствующим проникновению экзогенных субстанций. В коже имеется огромное число клеток, участвующих в воспалительных реакциях, среди них лимфоциты, плазматические клетки, нейтрофилы. Многие из этих клеточных элементов, присутствующих в нормальной коже, вовлечены в фагоцитоз, в реакции, способствующие удалению аллергенов, участвуют в обеспечении иммунологической памяти [4].

Кожа занимает важное место в качестве объекта для изучения различных проявлений гиперчувствительности немедленного и замедленного типов. Это обусловлено тем, что она является иммунным органом, так как имеет врожденные лимфоидные центры, которые вовлекаются в реакции гиперчувствительности и принимают участие в формировании очагов воспаления при аллергодерматозах [8].

Аллергические реакции легко воспроизводятся в коже в условиях эксперимента [6]. Кожа морских свинок (рис. 1. А, Б) очень близка по строению к коже человека, и поэтому на этих животных можно моделировать различные дерматологические заболевания.

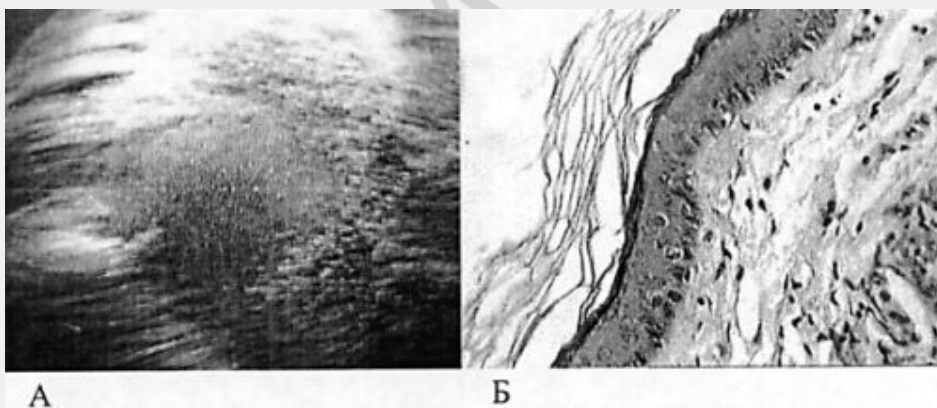


Рис. 1. Кожа интактных морских свинок при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40

Экспериментальный аллергический контактный дерматит (АКД) широко используется как модель для изучения различных звеньев течения аллергического дерматоза. Изучение морфологических изменений экспериментального АКД позволяет объяснить, как развивается аллергическое

воспаление, лежащее в основе и других заболеваний кожи. В доступной нам литературе отсутствуют сведения о влиянии различных вариантов лечения, в том числе и лазеротерапии, экспериментального АКД на морфологические изменения кожи морских свинок, что и предопределило цель данной работы.

Цель настоящего исследования - изучение морфологических изменений кожи при лазеротерапии и других вариантах лечения экспериментального АКД для обоснования целесообразности применения НИЛИ в клинической практике при аллергических дерматозах.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 105 морских свинок, сенсибилизированных по методике Залкан П.М. [3] 2,4-динитрохлорбензолом (ДНХБ). 3 капли 5% раствора ДНХБ однократно в виде аппликации наносили на очаг сенсибилизации (поверхность спины) с дополнительным нанесением на 7 других участков кожи по 1 капле 1% раствора. В развитии сенсибилизации у морских свинок по клинической и морфологической картине кожи различали 2 этапа. Первый этап - первично-контактная реакция (через 24 часа) в виде ограниченного отека и гиперемии. Эта реакция имеет черты неспецифического воспаления с некоторыми признаками начала развития сенсибилизации. Второй этап (на 8 суток) - спонтанная воспалительная реакция (реакция воспламенения) с тотальным некрозом эпидермиса и образованием обширных субэпидермальных пузырей. Эта реакция развивалась на иммунной основе и обязательным компонентом при этом являлась инфильтрация с наличием базофилов.

Животные были разделены на 7 групп (по 15 животных). I группа - интактные животные. II группа – интактные животные, у которых облучали участок кожи на поверхности спины гелий-неоновым лазером (АФЛ-1, длина волны 633 нм) по 10 мин. ежедневно в течение 10 суток при плотности мощности 10 мВт/см². III группа – интактные животные, которым вводили перорально через зонд масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела. IV группа - животные с экспериментальным АКД. V группа - животные с экспериментальным АКД, у которых участок сенсибилизации облучали гелий-неоновым лазером, начиная с 8-х суток опыта в течение 10 суток. VI группа - животные с экспериментальным АКД, которым, начиная с 8-ых суток вводили как масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела в течение 10 суток. VII группа - животные с экспериментальным АКД, у которых участок сенсибилизации облучали гелий-неоновым лазером, начиная с 8-х суток опыта в течение 10 суток и вводили масляный раствор витамина Е в дозе 0,1 мг/г массы тела в течение 10 суток.

Биопсию кожи во всех группах производили после декапитации на 21 сутки эксперимента, а у животных IV группы и на 8 сутки от начала эксперимента. Образцы тканей помещали в 10%-нейтральный формалин с последующей проводкой в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Изготавливали гистологические препараты по стандартной методике; окрашивались гематоксилин-эозином и азур-2-эозином. Исследование микропрепаратов (всего 72) для морфологического описания кожи проводили с помощью светового микроскопа FMD-B10 при увеличении 10x40.

Результаты и обсуждение

Макроскопическое изучение кожи морских свинок в участках облучения гелий-неоновым лазером (II группа) показало отсутствие каких либо видимых изменений в очагах лазерного излучения (рис. 2. А). Гистологически обнаружено, что облучение вызвало незначительное увеличение толщины зернистого и рогового слоев и небольшой акантоз. Сосочки дермы в некоторых участках становились уже и выше, чем в контрольных группах. Лейкоцитарных инфильтратов в дерме не обнаружено (рис. 2. Б).

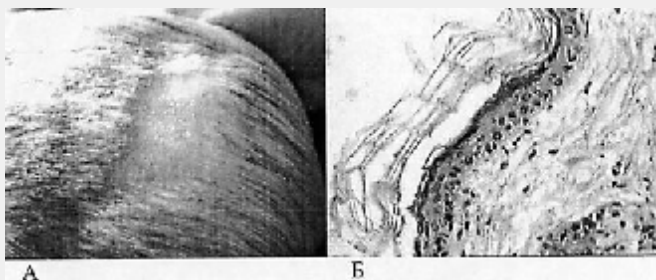


Рис. 2. Кожа морских свинок, облученных гелий-неоновым лазером при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40

При макроскопическом изучении кожи животных с экспериментальным АКД (IV группа) были выявлены: стойкая гиперемия, папуло-везикулезные высыпания, шелушение, эксфолиация, серозные корки (рис. 3. А). Гистологически наблюдались зоны выраженной деструкции всех слоев эпидермиса, встречались участки его десквамации с обнажением раневой поверхности. Роговой слой эпидермиса либо полностью отсутствовал, либо был разорван. В некоторых участках эпидермис был утолщен (за счет увеличения толщины шиповатого слоя), клетки базального и шиповатого слоев имели пикнотичные ядра, наблюдался акантолиз - дистрофические изменения клеток шиповатого слоя. В сосочковом слое были заметны обширные лейкоцитарные инфильтраты (преимущественно из лимфоцитов) без четких границ, часто сливающиеся и проникающие в глубже лежащие слои. Наблюдалась гиперемия кровеносных сосудов сосочкового слоя дермы в области раны (рис. 3. Б).

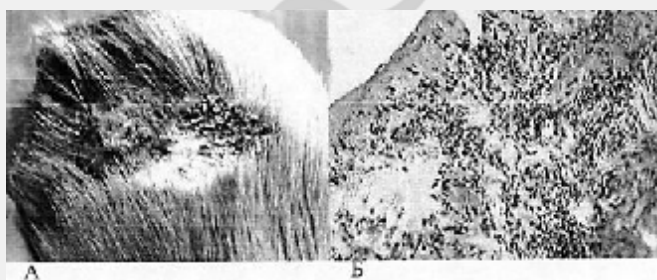


Рис. 3. Кожа морских свинок в очагах АКД при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10x40

Лечение АКД витамином Е (V группа) не способствовало восстановлению структур кожи (рис. 4. Б): сохранилось утолщение шиповатого слоя эпидермиса, обнаруживались дистрофически измененные эпителиоциты с пикнотичными

ядрами, сохранились лейкоцитарные инфильтраты. На коже животных в очагах сенсibilизации наблюдались эпидермодермальные папулы, инфильтрация, эритема, эксфолиации, трещины (рис. 4. А).

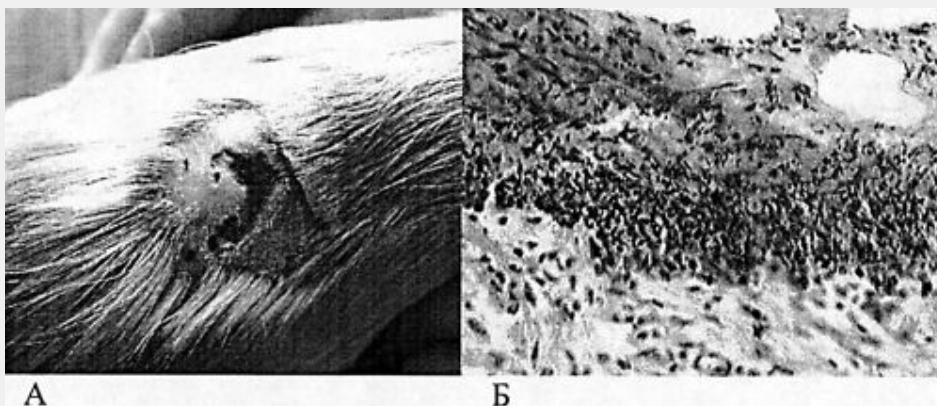


Рис. 4. Кожа морских свинок в очагах АКД после лечения витамином Е при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10х40

При лечении экспериментального АКД НИЛИ (VI группа) макроскопическая картина кожи была близка к таковой в контрольных группах (рис. 5. А). Гистологически выявлено, что лишь незначительное количество клеток шиповатого слоя имело акантолиз - следствие аллергического дерматоза. Соединительнотканые сосочки дермы стали менее выраженными, лейкоцитарная инфильтрация сосочкового и сетчатого слоев уменьшилась (рис. 5. Б). Вероятно, при воздействии лазерного облучения происходило усиление метаболических процессов в клетках эпидермиса и дермы, а также активизация транспорта в капиллярах. Лазеротерапия способствовала процессу заживления ран при экспериментальном АКД, увеличивая бактерицидность фагоцитов, и это привело к более эффективной дезинфекции раневого дефекта и очистке от остатков погибших клеток. Очевидно, НИЛИ улучшило микроциркуляцию крови, что способствовало реперфузии и увеличению содержания кислорода в ишемизированной области раневого дефекта. Действие лазеротерапии привело к более быстрой смене популяций лейкоцитов в ране, и популяция гранулоцитов заменилась популяцией мононуклеарных лейкоцитов, способных продуцировать различные цитокины, индуцирующие синтез коллагена и пролиферацию фибробластов.

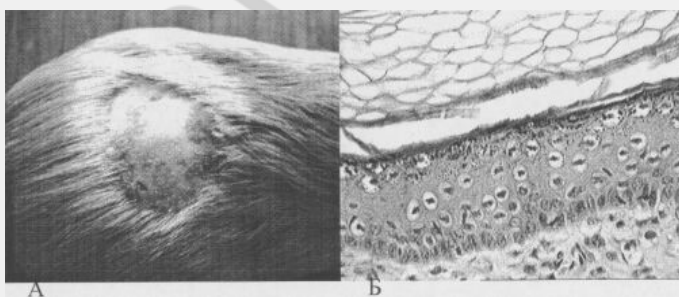


Рис. 5. Кожа морских свинок в очагах АКД после облучения гелий-неоновым лазером при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10х40

Таким образом, особенностью лазерного излучения как терапевтического фактора является его стимулирующее действие на процессы регенерации тканей. Важнейшим условием активации процессов регенерации различных тканей является интенсификация пролиферации клеток [1]. В ходе эксперимента данная гипотеза подтвердилась.

При комплексном лечении АКД лазером и витамином Е (VII группа) гистологическая картина кожи практически полностью нормализовалась; толщина слоев эпидермиса близка к таковой в норме, за исключением отдельных небольших участков утолщения шиповатого слоя. Количество дистрофически измененных эпителиоцитов шиповатого слоя было незначительным. Соединительнотканые сосочки по высоте и ширине соответствовали таковым в контроле. Лейкоцитарная инфильтрация сосочкового и сетчатого слоев дермы почти не наблюдалась (рис.6 Б). Макроскопическое исследование кожи животных этой группы показало полную регенерацию ткани, вовлеченной в аллергический процесс (рис. 6. А).

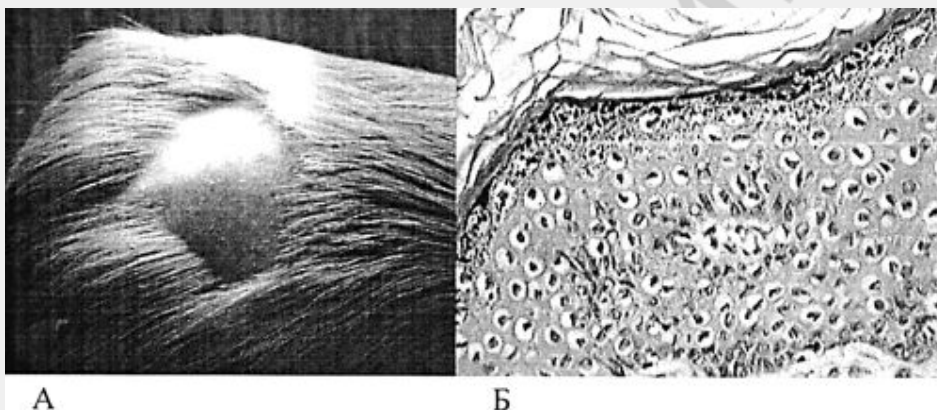


Рис. 6. Кожа морских свинок в очагах АКД после сочетанного лечения гелий-неоновым лазером и витамином Е при макроскопическом исследовании (А) и при гистологическом исследовании (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 10х40

Выводы

1. Экспериментальный АКД вызывает значительные патологические изменения эпидермиса, дермы и сосудов кожи, выражающиеся в деструкции всех слоев эпидермиса, обширной лейкоцитарной инфильтрации дермы, гиперемии кровеносных сосудов.
2. Облучение гелий-неоновым лазером восстанавливает структуру эпидермиса и дермы, уменьшает лейкоцитарную инфильтрацию, усиливая метаболические процессы в клетках эпидермиса и дермы и активируя транспорт в капиллярах.
3. Совместное действие гелий-неонового лазера и витамина Е оказалось наилучшим вариантом лечения экспериментального АКД из изученных нами, так как способствовало исчезновению деструктивных изменений эпидермиса,

дермы и сосудов кожи, улучшению трофики ткани и более эффективному удалению ДНХБ-белковых конъюгатов из очага аппликации.

Литература

1. Васильев Н.В., Волянский Ю.Л. и др. Лазеры в медицине и биологии. // Материалы VI Республиканской научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии». – Харьков, 1996. – С. 3-5.
2. Гамалея И.Ф. Лазерная биостимуляция. Современное понимание механизмов и новые принципы клинического применения. // Международная конференция «Лазеры и медицина» - Ташкент, 1989. – Ч.1.- С. 57–59.
3. Залкан П.М., Ивлева Е.А. Экспериментальная модель аллергического дерматита. // В кн. Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. М., - 1965. – 106 с.
4. Кожа (строение, функция, общая патология и терапия). // Под ред. Чернуха А.М., Фролова Е.П. - М.: Медицина, 1982. - 335 с.
5. Крюк А.С., Мостовников В.А. Терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения. Минск, 1986. – 231 с.
6. Кулага В. В., Романенко И. М. Аллергические заболевания кожи. - К.: Здоровье, 1997.- 256 с.
7. Плетнев С.Д. Лазеры в клинической медицине. – Москва.: Медицина, 1996. – 428 с.
8. Цветкова Г.М., Персина И.С. Лезвинская Е.М. О некоторых особенностях развития экспериментального аллергического контактного дерматита. // Архив патологии. - 1979. - № 5.- С. 30-37.
9. Dougherty T. J. Use of hematoporphyrin in photodynamic therapy. // Photochem Photobiol. – 1993. - V. 58, № 895. - P. 900.