

*На правах рукописи*



**Лаврушина Елена Евгеньевна**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТОВОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ  
РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ  
(экспериментальное исследование)**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**05 ДЕК 2008**

Оренбург – 2008

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор  
**Топурия Гоча Мирианович**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
**Шевлюк Николай Николаевич;**  
кандидат биологических наук, доцент  
**Вишневская Татьяна Яковлевна**

Ведущая организация: ГНУ Всероссийский научно-исследовательский  
ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии РАСХН

Защита диссертации состоится 22 декабря 2008 г. в часов на заседании диссертационного совета ДМ220.051.01 при ФГОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет» (460795, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18. Тел. (3532) 78-12-86).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке, а с авторефератом на сайте <http://www.orensau.ru> ФГОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет».

Автореферат разослан                      ноября 2008 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
профессор



Р.Ш. Тайгузин

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1 Актуальность темы.** Термический ожог – один из видов травмы, возникающей при действии на ткани организма высокой температуры (пламя, кипяток, пар и др.) (Герасимова Л.И., 2000; Вихриев Б.С., Бурмистров В.М., 1986). Отличительными особенностями процессов заживления обширных термических ожогов тела являются торможение лейкоцитарно-макрофагальной реакции на ранних стадиях травматического воспаления, вторичное углубление деструктивных изменений в ожоговой ране с формированием второго демаркационного вала, длительная задержка нормализации сосудисто-тканевой проницаемости, угнетение функциональной активности клеток лимфоидно-гистиоцитарного и фибробластического рядов (Неулыбин В.И., 1990). Ожоговая травма часто сопровождается развитием деструктивных процессов в лимфоидных органах (Пагава К. И., 1988; Бабаева А.Г. с соавт., 1995; Долгушин И.И., 1990; и др.). Снижение иммунологической реактивности и неспецифической резистентности у обожженных обуславливает в значительной степени развитие инфекционных процессов.

Не подвергая сомнению значимость традиционной фармакологии в комплексном лечении последствий ожоговых травм, с каждым годом становится очевиднее, что широкое применение антибиотикотерапии и противовоспалительных средств не привело к ликвидации инфекционных осложнений и их последствий (Карандашов В.И. и др., 2001).

Все это требует от фундаментальной биологии новых сведений о тонких механизмах регуляции восстановительных процессов в организме, что должно способствовать поиску новых, экологически безопасных методов восстановления поврежденных органов. Одним из таких методов является фототерапия с применением низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) красной и инфракрасной частей спектра.

Анализ литературных данных дает основание полагать, что НИЛИ оказывает как местное действие – непосредственно на облучаемые органы и ткани, так и генерализованное воздействие на организм в целом, приводящее к изменению его энергетических параметров, оптимизации процессов саморегуляции, и, в конечном итоге, к возникновению различных клинических эффектов: противовоспалительного, обезболивающего, регенераторного, иммунокорректирующего и др. (Юдин В. А., 1991; Козлов В. И., Буйлин В. А., 1993; Архангельский А. В., Воронцова С. А., 1994; Fankhauser P., 1977 и др.). Однако, являясь эффективным стимулятором репаративных процессов, лазерное излучение, из-за наличия некоторых противопоказаний и своей еще достаточно высокой стоимости, не всегда оказывается доступным (Гейниц А.В. и др., 2001).

В связи с этим, является актуальным использование в лечебной практике некогерентного светодиодного излучения красного спектра света (СДИКСС), обладающего идентичным лазерному излучению биологическим действием (Пагава К.И., 1988), выгодно отличающегося от последнего рядом

преимущества: позволяет четко регулировать параметры воздействия; может применяться в различных условиях из-за простоты и доступности методик; оказывает щадящее воздействие на организм, не вызывающее побочных нарушений в структурах тканей; имеет высокую эффективность при малых дозах облучения (Кончугова Т.В. и др., 1997). Однако в научной литературе имеются лишь единичные данные о терапевтическом воздействии светодиодного излучения на биоткани (Анисимов В.Н. и др., 1994; Бирюков В.С., Шингарев Т.Л., 1995; Макахлен А.М., 1998; Абрамзон М.И. и др., 2001; Соколова Т.В. и др., 2001; Воробьева Л.Н., 2002; Столбовская О.В. и др., 2003). Механизмы течения раневого процесса и вопросы репаративной регенерации при его воздействии остаются в настоящее время практически неизученными.

**1.2 Цель и задачи исследований.** Целью настоящего исследования явилось комплексное изучение влияния светодиодного излучения красного спектра света при различных способах подведения его к организму на регенераторные процессы в тканевых структурах кожи после ожоговой травмы.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Изучить в эксперименте на животных морфологические изменения и характер травматической реакции основных структурных компонентов кожи после термического ожога под влиянием светодиодного излучения красного спектра света.

2. Провести сравнительную оценку морфофункциональных изменений в ожоговой ране, течения раневого процесса и заживления ожоговой раны при различных способах подведения светодиодного излучения красного спектра света к организму (при облучении области термического повреждения и зоны проекции тимуса).

3. Изучить динамику структурных изменений в тимусе мышей при экспериментальной ожоговой травме кожи на фоне воздействия светодиодным излучением красного спектра света.

4. Изучить динамику изменений клеточного состава и функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов периферической крови животных после термического повреждения кожи в условиях различного подведения СДИКСС к организму.

**1.3 Научная новизна.** Впервые изучено влияние светодиодного излучения красного спектра света при различных способах подведения его к организму на регенераторные процессы в тканевых структурах кожи после ожоговой травмы. Впервые установлена динамика структурных изменений в тимусе, клеточный состав периферической крови при экспериментальной ожоговой травме и в условиях воздействия светодиодным излучением красного спектра света.

**1.4 Практическая значимость и реализация результатов исследований.** Полученные данные дают представление о характере и глубине структурных изменений в организме животных при экспериментальной тер-

мической травме. Дано научное обоснование для проведения лечебных мероприятий с использованием низкоинтенсивного светового излучения.

На основании проведенных исследований разработаны рекомендации «Использование светодиодного излучения в терапии термических ожогов», издана монография «Применение светодиодного излучения для коррекции процессов регенерации кожи».

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе аграрных вузов: ФГОУ ВПО «Оренбургский ГАУ», «Ульяновская ГСХА», «Пензенская ГСХА», «Самарская ГСХА», «Пермская ГСХА», «Уральская государственная академия ветеринарной медицины».

Разработанный метод лечения термических ран у животных внедрен в ветеринарных клиниках Димитровградской межрайонной ветлаборатории Ульяновской области.

**1.5 Апробация работы.** Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на всероссийских научно-практических конференциях: «Актуальные проблемы патологии, морфологии и онкологии животных» (Новочеркасск, 2007); «Медико-физиологические проблемы экологии человека» (Ульяновск, 2007); «Проблемы экологии Южного Урала» (Оренбург, 2007).

#### **1.6 Основные положения, выносимые на защиту:**

- морфофункциональные изменения в организме животных при термических ожогах;
- биологическое действие СДИКСС при термической травме;
- лечебная эффективность СДИКСС.

**1.7 Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ (из них 5 в журналах, рекомендованных ВАК РФ), в т.ч. рекомендация и монография.

**1.8 Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 168 страницах текста компьютерного набора, состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, материала и методов исследований, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Работа содержит 17 таблиц, иллюстрирована 48 рисунками. Список литературы включает 249 источников, в том числе 68 зарубежных авторов.

## **2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Экспериментальные исследования проводились на половозрелых белых мышах массой 20-25г. Все процедуры по уходу осуществляли в соответствии с нормами и правилами обращения с лабораторными животными.

Для нанесения ожоговой травмы применялся термокоагулятор. За 2 суток до нанесения контактного ожога проводилась депиляция участков кожи с помощью сернистого натрия, а затем животным под глубоким эфирным наркозом моделировали термическую рану в центре спины (площадью 5мм<sup>2</sup> каждый). Термическое воздействие в выбранном диапазоне приводило к пора-

жению кожи, сходному с ожогом III степени у человека, с формированием плотного струпа белого цвета, отчетливо заметного на фоне интактной кожи. При этом развивался некроз, поражающий все слои и структуры дермы.

В качестве источника СДИКСС нами использовался прибор, сконструированный и изготовленный на кафедре оптики и спектроскопии твердого тела физического факультета УлГУ. Излучающее устройство (диоды) представляют собой арсенид-галлий-алюминиевые кристаллы красного спектра свечения с длиной волны 0,620-0,680 мкм, помещенные в пластмассовый корпус типа "карандаш" в сочетании с блоком питания. Источник характеризуется следующими параметрами: средняя мощность излучения – 2,5 мВт; импульсная мощность излучения – 5 мВт; частота повторения импульса – 50 Гц; длительность импульса – 5 мсек.

Животные были разделены на 5 экспериментальных групп: 1-я группа – интактные животные (n=35); 2-я группа – контрольные животные с термической травмой (n=35); 3-я группа – животные, у которых облучалась зона раневого дефекта в течение 2 мин (n=35); 4-я группа – животные с ожоговыми повреждениями, у которых черезкожному воздействию СДИКСС подвергалась область проекции тимуса в течение 4 мин (n=35); 5-я группа – животные, которым в отсутствии повреждения кожи облучалась область проекции тимуса в течение 4 мин (n=35).

Плотность мощности светодиодного излучения для животных экспериментальных групп была одинаковой и составляла 1,41 мВт/см<sup>2</sup>, плотность энергии для животных 3-й группы – 169,8 мДж/см<sup>2</sup>, для 4-й и 5-й групп – 338,4 мДж/см<sup>2</sup>. Суммарная доза облучения составила у мышей 3-й группы на 28-е сутки – 4,75 Дж/см<sup>2</sup>, а у животных 4-й и 5-й групп – 9,48 Дж/см<sup>2</sup>.

Выведение животных из эксперимента для проведения гистологических исследований производили на исходе 3-х, 5-х, 9-х, 11-х, 15-х, 21-х, 28-х суток передозировкой эфира. опыты проводили с учетом требований Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

В качестве объекта исследования были взяты участки кожи с нанесенной травмой и тимус. Участок кожи в области нанесения раны для гистологических исследований фиксировался в 10% нейтральном формалине, затем обезживался в спиртах возрастающей концентрации и заключался в парафин. Парафиновые срезы толщиной 6–8 мкм окрашивались комплексом гистологических методик. Для выявления гистологических изменений и функциональной оценки клеточных и неклеточных компонентов ожоговой раны в процессе репаративной регенерации проводили окраску срезов гематоксилином и эозином, азур II эозином по А. Максимуму и пикрофуксинном по методу Ван-Гизона. Гистологические срезы тимуса толщиной 6 мкм окрашивали азур II эозином и по Ван-Гизону.

Морфометрические измерения гистологических срезов кожи в области раневого дефекта проводили посредством программного обеспечения МЕКОС-Ц с использованием светового микроскопа. На стандартной площади

измеряли относительную площадь эпителиального регенерата, а также площадь некротической и соединительной тканей. Для определения скорости эпителизации измеряли длину подрастающих эпителиальных тяжей с обеих сторон и общую ширину раны с последующим вычислением коэффициента регенерации эпителия:

$$K_p = l_1 + l_2 / L,$$

где  $l_1$  и  $l_2$  – длина эпителиальных регенератов,  $L$  – ширина раны, которая измерялась по прямой между точками начала регенерации эпителия.

Для выявления тучных клеток в соединительной ткани и тимусе использовали модифицированный способ окраски азуровым красителем. Для каждого препарата тканевые базофилы подсчитывались в 20 полях зрения (при увеличении  $7 \times 40$ ) с последующим пересчетом на площадь одного поля зрения, которое было принято за единицу. Абсолютная площадь одного поля зрения составляла  $0,332 \text{ мм}^2$ . Подсчитывались все тучные клетки, и отмечалось количество каждого типа мастоцитов. Для характеристики степени активности в целом тучноклеточной популяции определяли средний индекс дегрануляции (КД):

$$\text{КД} = N/n,$$

где  $n$  – общее количество тканевых базофилов,  $N$  – число дегранулированных форм.

О функциональной активности фибробластов в динамике репаративной регенерации судили по образованию ими компонентов межклеточного вещества – коллагеновых волокон, на препаратах, окрашенных по методу Ван-Гизона.

Для характеристики в целом клеточных элементов соединительной ткани в динамике репаративных процессов на препаратах, окрашенных азур II эозином, проводили подсчет общего количества нейтрофилов, макрофагов, фибробластов, фиброцитов, лимфоцитов и эозинофилов в 10 полях зрения (при увеличении  $7 \times 40$ ).

Морфометрические исследования тимуса на препаратах включали определение корково-мозгового индекса (КМИ); в строме тимуса определялось число тучных клеток и уровень их секреторной активности. Значения корково-мозгового индекса определялись с помощью программного обеспечения МЕКОС-Ц. Подсчет содержания клеточных элементов на условной площади и определение уровня их активности проводилось аналогично исследованиям популяций тучных клеток в раневых регенератах.

Для цитологического анализа периферической крови в процессе репаративной регенерации и подсчета лейкоцитарной формулы готовые мазки окрашивали по стандартной методике Романовского – Гимза. Определение степени выраженности эндогенной интоксикации, проводили путем подсчета лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), отражающего степень воспалительного ответа организма, по модифицированной формуле Я.Я. Кальфа-Калифа:

$$\text{ЛИИ} = \frac{\text{сегментно-ядерные} + \text{палочко-ядерные} + \text{юные} + \text{миелоциты} + \text{плазматич. клетки}}{\text{моноциты} + \text{лимфоциты} + \text{эозинофилы}}$$

Состояние кислородзависимых механизмов бактерицидности (продуктов респираторного взрыва) нейтрофилов периферической крови мышей выявляли в тесте спонтанного восстановления *n*-нитротетразолия фиолетового (НСТ-тесте).

Процент гранулоцитов, восстанавливающих НСТ в диформазан, определялся модифицированным цитохимическим методом (Park B.N. et al., 1968). В соответствии с методикой мазки крови высушивали и окрашивали дважды: по Паппенгейму и второй раз *n*-тетразолиевым нитрофиолетовым. Подготовленные мазки микроскопировали при увеличении 10×90. На каждом препарате учитывалось по 100 клеток, в которых вычислялся процент диформазанположительных клеток из общего числа нейтрофилов в мазке (НСТ,%), а также средний цитохимический коэффициент активности (СЦК) по формуле:

$$\text{СЦК} = (0 \cdot a + 1 \cdot b + 2 \cdot c + 3 \cdot d) / 100,$$

где *a* – количество нейтрофилов без гранул; *b, c, d* – количество нейтрофилов с окрашенной цитоплазмой. Цифры указывают на степень окрашивания цитоплазмы: 0 – цитоплазма не содержит гранул; 1 – слабое окрашивание цитоплазмы; 2 – окрашивание средней интенсивности; 3 – интенсивно окрашенная цитоплазма.

Одновременно изучали активность фермента миелопероксидазы. Высушенные мазки крови фиксировали в смеси 96% этанола и формалина, окрашивали спиртовым раствором бензидина с добавлением перекиси водорода и докрашивали ядра нейтральным красным. Результаты учитывали на микроскопе (увеличение 10×90) в иммерсионной среде, анализируя активность фермента по появлению в цитоплазме нейтрофилов (*n*=100) окрашенного продукта пероксидазной реакции – оксибензидина (Пирс Э., 1962). Активность миелопероксидазы оценивали по тем же показателям, что и состояние кислородного метаболизма нейтрофилов.

Оценку статистической значимости полученных данных проводили по *t*-критерию Стьюдента, достоверность различий определяли по критерию Фишера-Стьюдента (Автандилов Г.Г., 1990; Лакин Г.Ф., 1980).

Выражаю признательность и благодарность д.б.н., проф. Г.М. Топурия и к.б.н., доц. О.В. Столбовской за помощь в организации и проведении исследований.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Результаты морфофункциональных исследований кожи

У животных контрольной группы через трое суток наблюдался глубокий коагуляционный некроз, захватывающий всю толщу дермы. Зона некроза занимала до 94% площади раны. При цитологическом исследовании препа-



ратов отмечалось преобладание полинуклеаров в различной степени деструкции (среднее число их составляло  $42,47 \pm 2,473$  на единицу площади раневого дефекта), веретенovidные и тучные клетки встречались редко, численность макрофагов составляла  $7,13 \pm 0,952$  клеток. Гистологическая картина на 5-9-е сутки после ожога свидетельствовала о развитии воспалительно-регенеративных процессов в ране: наряду со значительным количеством нейтрофильных лейкоцитов увеличивалось число макрофагов, численность лимфоцитов снижалась. На 11-е сутки наблюдалось сокращение площади некротизированных тканей до 25,52%. В глубоких слоях некроза наблюдалась нейтрофильная инфильтрация, выявлялись единичные макрофаги и фибробласты. Демаркационный вал отсутствовал, однако, в отечной жировой и межмышечных тканях зафиксировано разрастание грануляций с очаговой инфильтрацией их нейтрофилами. В жизнеспособной ткани сохранялись нарушения кровообращения в виде отека, полнокровия сосудов и краевым стоянием лейкоцитов. На 15-е сутки наблюдений в зоне ожогового повреждения выявлялись изменения, свидетельствующие о нарастании регенераторно-воспалительных процессов. Слой некроза выявлялся в виде узкой полоски на поверхности регенерата, площадь некротизированных тканей сократилась до 10,09%. Значительно увеличилась площадь молодой соединительной ткани. Демаркационный вал был различной степени выраженности, в нем отсутствовали четкие признаки границ. На фоне общего снижения числа нейтрофильных лейкоцитов в ране еще обнаруживались очаги инфильтрации. На 21-е сутки опытов у мышей контрольной группы некротический детрит сохранялся кое-где на поверхности раны в виде отдельных островков, относительная площадь его составляла около 8,5%, раны, очищенные от струпа, были покрыты тонкой полоской эпителия, но полной эпителизации не обнаруживалось ни у одного животного. Во вновь образованной соединительной ткани отмечалось активное формирование сосудистой сети.

У мышей 3-й группы после трех экспозиций света в раневых регенератах наблюдалось увеличение содержания клеточных элементов фибробластического ряда. Содержание тучных клеток значительно превышало контрольные значения. Отмечалась активация выхода эозинофильных лейкоцитов из кровяного русла в область повреждения. Под участками некротизированных тканей, по периферии и в области дна раны встречались новообразованные капилляры с элементами грануляционной ткани. Относительная площадь молодой соединительной ткани составила 20,08%, что в 4,25 раза превышало аналогичные показатели в контрольной группе. На 5-е сутки опытов в зоне раневого дефекта наблюдался незначительный прирост грануляционной ткани. Эпителиальные тяжи, порастающие под струп, покрывали 30–40% раневой поверхности. Площадь эпителиального регенерата составляла 10,94%, что в 2,0 раза выше контрольных значений. Вся зона воспаления была густо инфильтрирована нейтрофильными лейкоцитами с примесью

единичных плазматических и лимфоидных клеток. Численность клеток фибробластического ряда в этот период не превышала контрольные значения.

В последующие сроки наблюдения (9–11 сутки) в стремительно увеличивающейся толще грануляционной ткани отмечалось нарастание числа макрофагов, лимфоцитов и фибробластов. Среди последних, чаще, чем в контрольной группе, встречались веретеновидные клетки, с характерным для фиброцитов строением. К 11-м суткам эксперимента поверхность раневого дефекта в среднем на 91% была покрыта пластом истонченной эпителиальной ткани (у контрольных животных этот показатель не превышал 48%). По краям зоны некроза наряду с формирующимися грануляциями отмечалось полосовидное отторжение поверхностных слоев разрушенного эпидермиса. Краевой эпидермальный регенерат, образующийся из сохранившихся придатков кожи или растущий с периферии ожоговой раны, подрастал под демаркационный вал и состоял из 2-3 слоев клеток базального типа. Под базальными клетками эпидермального пласта выявлялись периваскулярно расположенные немногочисленные клетки фибробластического ряда. В собственном слое дермы отмечалась нормализация коллагеновых и эластических волокон. Кое-где выявлялись отдельные скопления тучных клеток. На многих препаратах были отмечены вновь образованные волосяные фолликулы. Вновь образованные сосуды, отличающиеся более упорядоченным расположением, постепенно формировали слой сосудистых петель, типичный для нормально организованной грануляционной ткани.

При микроскопическом исследовании препаратов, полученных от животных после 15-ти сеансов фототерапии, было выявлено, что подлежащая под ожоговым струпом некротизированная ткань отграничивалась от нижележащих тканей демаркационным валом с преобладанием в нем лимфоидно-плазмоцитарных клеточных элементов и макрофагов. При этом демаркационный вал был лучше сформирован по сравнению с контрольными препаратами, состоял из большего числа клеток, с высокой плотностью их расположения. Наличие тучных клеток в составе демаркационного вала и высокая степень их дегрануляции косвенно свидетельствовали о высокой функциональной напряженности клеток. На 21-е сутки проведения фототерапевтических мероприятий у 100% животных раны, полностью очищенные от некротических масс, были покрыты истонченным слоем многослойного плоского эпителия.

На 3-и сутки опытов морфологические изменения у животных 4-й группы свидетельствовали о процессах деструкции и дезорганизации волокнистых структур ожоговой раны. На поверхности ожоговой раны выявлялся коагуляционный некроз эпидермиса. Зона некроза, захватывая все слои дермы и подкожной жировой клетчатки, распространялась в мышечные слои. Большая часть волосяных фолликулов находилась в состоянии некробиоза. На 5-е сутки экспериментов выявлялось умеренное уплотнение некротизированных слоев эпидермиса. В глубоких слоях сетчатого слоя дермы выявля-

лись начальные признаки пролиферативной фазы регенераторного процесса, что выражалось в появлении единичных фибробластов и небольшого количества тонких капилляров. Морфологические и гистохимические признаки клеток гранулоцитарного и фибробластического ряда, макрофагов, входящих в состав формирующейся грануляционной ткани, свидетельствовали об их невысокой, по сравнению с аналогичными показателями у животных 3-й группы, функциональной активности. На 9–11 сутки на поверхности ожоговой раны наблюдалось полосовидное отторжение некротизированного эпидермиса без воспалительных процессов в подлежащих тканях. Количество нейтрофильных гранулоцитов, макрофагов, лимфоцитов и тканевых базофилов, образующих демаркационный вал и плотность их расположения в нем было несколько ниже, чем в ранах животных 3-й группы. По периферии раны выявлялись небольшие участки вновь образованного эпителия. На 15-е сутки очаги некроза резко истончились. Большая часть раны была покрыта тонким эпителиальным регенератом, площадь которой несколько уступала показателям у животных 3-й группы. Под вновь образованным эпителиальным слоем выявлялся хорошо сформированный грануляционный вал. Выявляли частично восстановленные волосные фолликулы.

К 21-м суткам большая часть раневой поверхности была представлена несколькими слоями покровного эпителия, очаги некроза выявлялись лишь в виде отдельных небольших островков. На месте предшествующего раневого повреждения наблюдались процессы перестройки и созревания соединительной ткани, в целом соответствовавшие структурным изменениям, наблюдаемым у животных 3-й группы.

К моменту окончания эксперимента, т.е. через 4 недели после нанесения ожоговых повреждений, участки травм большинства животных, полностью очищенные от некротических масс, были заполнены молодой соединительной тканью, покрытой истонченным пластом многослойного плоского эпителия.

У животных контрольной группы под сформировавшейся базальной мембраной эпидермиса в толще дермы сохранялась рассеянная очаговая лимфоидно-плазмочитарная клеточная инфильтрация, в некоторых участках обнаруживались скопления нейтрофильных лейкоцитов, что свидетельствовало о незавершенности воспалительного процесса. Придатки кожи были почти полностью восстановлены. В отдельных вновь образованных сосудах наблюдалось краевое стояние лейкоцитов. Волокнистые структуры, выявляемые в поверхностных слоях соединительной ткани, отличались большей по сравнению с предыдущим периодом плотностью и упорядоченностью, однако более рыхлое их расположение в сравнении с интактной кожей свидетельствовало о незрелости грануляционной ткани. В глубоких слоях дермы выявлялись признаки рубцевания; небольшое количество сосудов, преобладание утолщенных хаотично расположенных структур над клеточными ком-

понентами обнаруживали формирование грубоволокнистой фиброзной ткани и незавершенность процессов ее эволюции.

В этот период у животных 3-й и 4-й групп восстановленный эпителий был представлен несколькими слоями слабо дифференцированных клеток; молодая соединительная ткань, возникшая в результате регенерации в области ожоговой травмы, приобретала вид нормальной дермы с менее плотным расположением фибробластов и более упорядоченным расположением коллагеновых и эластических волокон. Среди фибробластов преобладали молодые формы. Отмечалось значительное увеличение числа хорошо сформированных волосяных фолликулов.

### **3.2 Состояние тучных клеток кожи в процессе заживления после термической травмы при различных способах воздействия СДИКСС**

У животных контрольной группы на 3-и сутки после нанесения ожоговой травмы наблюдалась массовая дегрануляция и гибель тучных клеток. Количество последних в этот период было минимальным и составляло  $34,11 \pm 2,214$ , коэффициент дегрануляции составлял  $0,85 \pm 0,027$  ед. В течение последующих 6-и дней происходило постепенное восстановление общего числа лейкоцитов, а на 9-е сутки эксперимента было отмечено превышение показателей нормы на 30%.

На 11-е сутки наблюдалось максимальное для данной группы увеличение этих показателей, среднее количество тканевых базофилов составляло  $156,20 \pm 4,862$ . При этом удельное количество активно дегранулирующих форм оставалось выше среднего количества аналогичных клеток у интактных животных. Коэффициент дегрануляции на 9-е и 11-е сутки составлял соответственно  $0,77 \pm 0,012$  и  $0,73 \pm 0,014$  ед. В последующие периоды эксперимента количество тучных клеток на исследуемой площади оставалось на уровне показателей животных интактной группы, а доля активно дегранулирующих форм в популяции лишь незначительно превышала их. Снижение общего числа тканевых базофилов в области раневого дефекта и их массовая дегрануляция отмечались также у животных 3-й и 4-й экспериментальных групп, однако характер изменений имел некоторые особенности. Уже на 3-и сутки после начала терапевтических мероприятий у мышей обеих групп количество тучных клеток превышало показатели животных контрольной группы в 2 раза. Своего максимума численность лейкоцитов у животных 4-й группы достигала на 5-е сутки, 3-й группы – на 9-е сутки эксперимента ( $146,2 \pm 2,71$  и  $144,4 \pm 7,257$  клеток соответственно), после чего наблюдалось постепенное снижение этих показателей до  $96,6 - 110,1$  клеток на исследуемой площади. На протяжении всего периода светового воздействия в регенератах животных обеих групп доля дегранулирующих типов клеток оставалась преобладающей, при этом на 3-и сутки заживления коэффициенты дегрануляции были достоверно ниже, а в последующие периоды выше аналогичных показателей контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1 – Коэффициент дегрануляции тучных клеток

Сроки набл., сутки	Группы животных			
	1-я (интактная)	2-я (контрольная)	3-я (облучение раны СДИКСС)	4-я (облучение тимуса с нанесе- нием раны)
3-и	0,62±0,010	0,85±0,027*	0,80±0,012 <sup>0</sup>	0,76±0,025 <sup>0+</sup>
5-е		0,84±0,025*	0,86±0,028 <sup>0</sup>	0,87±0,009 <sup>0</sup>
9-е		0,77±0,012*	0,90±0,009 <sup>0</sup>	0,87±0,004 <sup>0</sup>
11-е		0,73±0,014*	0,79±0,015 <sup>0</sup>	0,82±0,016 <sup>0+</sup>
15-е		0,70±0,015*	0,83±0,013 <sup>0</sup>	0,74±0,010 <sup>0+</sup>
21-е		0,67±0,021*	0,75±0,019 <sup>0</sup>	0,71±0,011 <sup>0+</sup>
28-е		0,64±0,032*	0,62±0,016 <sup>0</sup>	0,65±0,011 <sup>+</sup>

Примечание: \* достоверные отличия от показателей интактных животных ( $p < 0,05$ ); <sup>0</sup> достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ( $p < 0,05$ ); <sup>+</sup> достоверные отличия от показателей животных, на рану которых воздействовали светодиодным излучением красного спектра света ( $p < 0,05$ ).

### 3.3 Исследование влияния светодиодного излучения на степень эпителизации раневой поверхности кожи

Анализ количественных показателей восстановления эпителиальной ткани выявил следующие особенности. Уже на 3-и сутки эксперимента коэффициент регенерации эпителия у животных 3-й и 4-й групп достоверно превышал показатели контрольной группы. Спустя 11-суток после нанесения ожоговых повреждений у животных 3-й группы степень восстановления эпителиальной ткани увеличилась до 91%, что почти в 2 раза превышало коэффициент регенерации у необлученных мышей. При этом воздействие светом на область проекции тимуса не вызывало резких отклонений от нормального течения процесса регенерации в 4-й группе.

Через 2 недели проведения терапевтических мероприятий у 40% животных 3-й группы наблюдалась полная эпителизация раневого дефекта, у остальных коэффициент регенерации приближался к единице. В 4-й группе аналогичные изменения были зафиксированы лишь к исходу 3-й недели светотерапии, в то время как в 3-й группе в этот период наблюдалось 100%-ное восстановление эпителиального слоя. Следует, однако, отметить, что на 15-е сутки воздействия СДИКСС в данной группе коэффициент регенерации в 1,5 раза превышал показатели контрольных животных. Положительная динамика сохранялась и в более поздние сроки наблюдений. Полностью завершённый процесс эпителизации в контрольной и 4-й группах можно было наблюдать к 28-м суткам эксперимента (табл. 2).

Таблица 2 – Коэффициент регенерации эпителия в зоне раневого дефекта

Сроки набл., сутки	Группы животных		
	2-я	3-я	4-я
3-и	0,09±0,016	0,21±0,011 <sup>0</sup>	0,17±0,011 <sup>0+</sup>
5-е	0,28±0,014	0,33±0,011 <sup>0</sup>	0,31±0,015 <sup>0+</sup>
9-е	0,42±0,007	0,65±0,005 <sup>0</sup>	0,47±0,008 <sup>0</sup>
11-е	0,48±0,016	0,91±0,015 <sup>0</sup>	0,55±0,015 <sup>0+</sup>
15-е	0,55±0,004	0,98±0,004 <sup>0</sup>	0,83±0,012 <sup>0</sup>
21-е	0,89±0,018	1,00±0,000	0,93±0,019 <sup>0</sup>
28-е	1,00±0,000	1,00±0,000	1,00±0,000

Примечание: <sup>0</sup> достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ( $p < 0,05$ ); <sup>+</sup> достоверные отличия от показателей животных, на рану которых воздействовали светодиодным излучением красного спектра света ( $p < 0,05$ ).

### 3.4 Показатели периферической крови мышей

Изучение картины крови животных контрольной группы выявило значительное повышение показателя ЛИИ уже к 3-им суткам эксперимента по сравнению с аналогичными изменениями у животных интактной группы (1,01±0,083 ед. и 0,65±0,066 ед. соответственно) за счет увеличения общего числа нейтрофильных гранулоцитов и резкого регенеративного сдвига ядра влево. Оставаясь на достаточно высоком уровне в течение последующих шести суток течения ожоговой болезни, ЛИИ претерпевал незначительные изменения за счет дифференциальных трансформаций отдельных групп лейкоцитов. Так, в период с 5-х по 9-е сутки было отмечено постепенное нарастание числа моноцитов и эозинофилов с параллельным уменьшением в крови палочкоядерных форм нейтрофилов.

Резкое снижение показателя лейкоцитарного индекса интоксикации на 11-е сутки до 0,40±0,019 ед. с незначительными колебаниями наблюдалось вплоть до 21-х суток эксперимента. В этот период отмечались понижение общего числа лейкоцитов, эозинофилия, резкий лимфоцитоз, уменьшение популяции нейтрофильных гранулоцитов с постепенным выравниванием до нормы палочко- и сегментоядерного соотношения, несколько уменьшилась моноцитарная реакция. Спустя четыре недели после нанесения ожогового повреждения ЛИИ мышей контрольной группы составлял 0,60±0,077 ед., что соответствовало условной норме экспериментальных животных, однако в означенный период относительное количество моно- и лимфоцитов оставалась достаточно высоким. В 3-й группе животных, область ожогового повреждения которых подвергалась ежедневным воздействиям СДИКСС, на 3-и сутки после начала процедур ЛИИ составил 1,30±0,166 ед., и превысил соответствующие показатели животных других экспериментальных групп. В этот пе-

риод отмечались резко выраженный нейтрофильный лейкоцитоз, сопровождающийся увеличением числа палочкоядерных клеток, снижение числа лимфоцитов, анэозинофилия и монопения. В течение следующей недели проведенные исследования выявили резкое снижение ЛИИ до  $0,65 \pm 0,120$  ед. и  $0,47 \pm 0,083$  ед. на 5-е и 9-е сутки соответственно, за счет уменьшения общего числа и числа незрелых форм нейтрофилов, постепенного нарастания моноцитарной популяции, восстановления эозинофилии и выраженного лимфоцитоза.

На 11-е сутки лейкоцитарный индекс интоксикации составлял  $0,92 \pm 0,069$  ед., что было несколько выше аналогичных показателей интактной и существенно выше контрольной групп. Дальнейшие исследования показали, что наметившаяся тенденция к увеличению ЛИИ сохранялась вплоть до окончания эксперимента, и к 28-м суткам индекс достигал своего максимального значения  $1,39 \pm 0,170$  ед. Анализ результатов подсчета лейкоцитарной формулы показал, что в этот период происходили вторичные изменения картины крови: нейтрофилия со сдвигом ядра влево, сопровождающаяся снижением числа лимфоцитов и выраженным моноцитозом.

В 4-й экспериментальной группе значение лейкоцитарного индекса интоксикации на 3-и сутки составляло  $0,42 \pm 0,040$  ед., что было достоверно ниже показателей интактных мышей и значительно ниже контрольной и 3-ей групп. Снижение ЛИИ в этот период стало результатом уменьшения в крови общего числа нейтрофильных лейкоцитов, в том числе палочкоядерных форм. Аналогичные изменения были отмечены в 5-й экспериментальной группе. В течение следующей недели проведения терапевтических мероприятий у животных 4-й группы наблюдались постепенное увеличение числа нейтрофильных гранулоцитов, сдвиг ядра влево, максимум которого отмечался на 5 сутки эксперимента. На 9-е сутки ЛИИ достиг уровня интактной группы, составив  $0,64 \pm 0,044$  ед., однако в этот период в крови животных была выявлена выраженная лейкоцитарная реакция.

Резкое сокращение числа нейтрофилов и возросший лимфоцитоз стали причиной снижения ЛИИ животных данной группы на 11-е сутки исследований до  $0,27 \pm 0,047$  ед., что соответствовало показателям мышей контрольной группы в аналогичный период времени.

После двухнедельного курса черезкожного воздействия на тимус СДИКСС и до конца эксперимента постепенное увеличение значения лейкоцитарного индекса интоксикации с  $0,83 \pm 0,099$  до  $1,27 \pm 0,252$  ед. на 15-е и 28-е сутки соответственно происходило вследствие появления в крови животных большого числа сегментоядерных нейтрофилов, сопровождающегося выраженным моноцитозом.

Наблюдения изменений клеточного соотношения в лейкоцитарной формуле животных 5-й группы в процессе воздействия на организм СДИКСС в области проекции тимуса выявили достоверное снижение ЛИИ на 3-и сутки

эксперимента до значения  $0,41 \pm 0,034$  ед. по сравнению с показателями интактной группы. Облучение проекции тимуса в течение последующих шести сеансов вызвали увеличение в крови общего числа нейтрофилов, некоторое снижение моноцитарной реакции, уменьшение количества лимфоцитов. ЛИИ при этом составил  $1,17-1,22$  ед.

Лимфоцитоз, который вызвал резкое снижение ЛИИ до  $0,77 \pm 0,039$  ед. на 11-е сутки, спустя две недели после начала эксперимента сменился выраженной лимфопенией, сопровождающейся увеличением в крови числа сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов. Указанные изменения привели к тому, что на 15-е сутки было зафиксировано достоверное превышение ЛИИ данной группы аналогичного показателя интактных животных. Через неделю (к 21-м суткам) общее число нейтрофилов в крови мышей снизилось и лейкоцитарный показатель интоксикации, несколько превышая физиологическую норму на  $0,08-0,09$  ед., оставался практически неизменным вплоть до конца эксперимента.

Анализ результатов НСТ-теста в контрольной группе показал, что на 3-и сутки после нанесения ожогового повреждения относительное количество формазанпозитивных гранулоцитов и значение СЦК приближались к показателям интактной группы, составив  $30,0 \pm 2,10\%$  и  $0,38 \pm 0,034$  ед. соответственно. В течение последующих 8-и суток происходило постепенное увеличение числа активных нейтрофилов, сопровождающееся достоверным увеличением клеток со средней степенью содержания гранул восстановленного красителя. На 11-е сутки эксперимента относительное количество нейтрофилов, содержащих восстановленный тетразолий, составляло  $53,6 \pm 3,49\%$ , средний цитохимический коэффициент активированных клеток превышал показатели животных интактной группы и был равен  $0,72 \pm 0,019$  ед. На 15-е и 21-е сутки было отмечено резкое снижение показателя метаболической активности нейтрофилов до  $32,4 \pm 3,87\%$  и  $31,6 \pm 3,25\%$  соответственно. Параллельно уменьшалось значение СЦК до  $0,41 \pm 0,044$  ед. и  $0,44 \pm 0,053$  ед. за счет увеличения числа клеток, не содержащих гранул диформаза или с низким их содержанием. Спустя четыре недели после ожогового повреждения исследования потенциальной фагоцитарной активности нейтрофилов в контрольной группе выявили увеличение процента активированных форм до  $38,8 \pm 1,74\%$ , СЦК составлял  $0,45 \pm 0,025$  ед., что на 10% и 8% превышало аналогичные показатели животных интактной группы.

У животных 3-й и 4-й экспериментальных групп к 3-м суткам наблюдалось резкое увеличение числа формазанположительных нейтрофилов по сравнению с показателями в контрольной группе (до  $43,2 \pm 1,855\%$  и  $39,6 \pm 0,748\%$  соответственно), причем уровень содержания активированных клеток в крови мышей этих групп оставался относительно высоким на протяжении всего курса светотерапии.

Максимумы процентного содержания в популяции гранулоцитов НСТ-положительных клеток с высоким показателем СЦК в обеих группах прихо-



дидлись на 11-е сутки эксперимента. Так, в 3-ей экспериментальной группе относительное число активированных нейтрофилов на 11-е сутки составляло  $50,4 \pm 2,48\%$ , СЦК был равен  $0,72 \pm 0,044$  ед.; у мышей 4-й группы активность спонтанной НСТ-реакции составляла  $50,4 \pm 1,17\%$ , СЦК –  $0,70 \pm 0,023$  ед. Показатели в обеих группах в этот период были несколько ниже, чем у животных контрольной группы, однако наблюдения в период с 15 по 21-е сутки выявили, что в условиях экспозиции светодиодным излучением происходит менее резкое, чем у контрольных животных, снижение уровня кислородного метаболизма сегментоядерных лейкоцитов.

К моменту окончания эксперимента процент клеток с признаками повышенной бактерицидной активности в крови животных 3-й группы приближался к показателям контрольных животных, в 4-й группе – лишь на  $2,4\%$  превышал их. Анализ динамики изменения показателей внутриклеточного метаболизма нейтрофилов периферической крови животных 5-й группы выявил увеличение активности спонтанной НСТ-реакции до  $41,6 \pm 0,75\%$ , СЦК – до  $0,56 \pm 0,013$  ед. уже на 3-и сутки после начала экспозиций, что на  $12,7\%$  и  $34\%$  соответственно превышало аналогичные показатели в интактной группе. В целом нужно отметить, что на протяжении всего периода наблюдений потенциальная бактерицидная способность нейтрофилов к фагоцитозу у мышей данной группы оценивалась в пределах  $35,2 – 43,2\%$ . При этом ежедневные воздействия СДИКСС вызывали достоверные сдвиги в сторону увеличения в крови количества нейтрофилов со средней степенью содержания гранул диформаза. Среднее значение СЦК в этой группе составляло  $0,52$  ед., в 1,4 раза превышая показатели интактной группы.

В интактной группе относительное количество нейтрофильных гранулоцитов периферической крови с признаками активации фермента составляло  $83,1 \pm 0,55\%$ , средний цитохимический коэффициент составлял  $2,14 \pm 0,019$  ед. У животных контрольной группы на третьи сутки после нанесения раны наблюдалась  $100\%$ -ная пероксидазная реакция нейтрофилов, при этом отмечались сдвиги в сторону увеличения числа клеток со средней степенью содержания гранул фермента (СЦК составлял  $2,38 \pm 0,297$  ед.). Однако уже на 5-е сутки эксперимента было отмечено резкое снижение этих показателей до  $69,6 \pm 5,63\%$  и  $1,39 \pm 0,120$  ед. соответственно. Нужно отметить, что в указанный период снижение активности фермента наблюдалось также в 3-й и 4-й группах животных, но коррекция регенераторных процессов облучением СДИКСС приводила к менее резкому ингибированию активности миелопероксидазы.

Исследования метаболического профиля нейтрофильных гранулоцитов контрольных животных на 9-е сутки выявили достоверное увеличение процента активированных клеток до  $90,2 \pm 3,48\%$ , СЦК – до  $2,44 \pm 0,098$  ед. Однако на 11-е сутки течения регенераторных процессов отмечалось снижение исследуемых параметров до уровня  $78,8 \pm 4,47\%$  и  $1,89 \pm 0,075$  ед. Дальнейшие наблюдения показали, что спустя две недели после нанесения ожогового по-

вреждения активность миелопероксидазы восстанавливалась, а в последующие дни превосходила норму. При этом к моменту окончания эксперимента отмечалась максимальная пероксидазная активность сегментоядерных лейкоцитов, сопровождающаяся достоверным увеличением ( $p < 0,05$ ) количества клеток с высоким содержанием гранул фермента.

У животных, раны которых подвергались ежедневным экспозициям СДИКСС, на 3-и сутки наблюдалась массовая активация миелопероксидазы в нейтрофилах. Процент клеток, содержащих окрашенный продукт пероксидазной реакции, составлял  $99,0 \pm 1,00\%$ , СЦК –  $2,34 \pm 0,083$  ед., приближаясь к соответствующим показателям в контрольной группе. Аналогичные изменения наблюдались у животных 4-й группы. СЦК активности гранулоцитов в 4-й группе был выше показателей контрольных животных на 19% и на 21% достоверно превышал показатели 3-ей группы ( $p < 0,05$ ). Спустя двое суток в 3-ей группе активность фермента снизилась до  $84,4 \pm 4,33\%$ , СЦК – до  $1,60 \pm 0,065$  ед., в 4-й группе – до  $74,8 \pm 1,71\%$  и  $1,42 \pm 0,166$  ед.

На 9-е сутки после нанесения ожоговых повреждений активность нейтрофилов в крови животных 3-ей группы снизилась практически до нормы и составила  $80,6 \pm 2,99\%$ , наметились сдвиги в сторону увеличения количества клеток со средней степенью содержания азурофильных гранул (СЦК составлял  $2,08 \pm 0,052$  ед.). У животных 4-й группы в этот период также происходило восстановление пероксидазной реакции до нормы.

Увеличение дозы светодиодного облучения на 11-е сутки и 15-е сутки эксперимента индуцировало повышение активности миелопероксидазы в нейтрофилах животных 3-й группы до уровня  $93,0$ – $93,2\%$ , что значительно превышало аналогичные показатели контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Через три недели после начала терапевтических процедур процент гранулоцитов с признаками пероксидазной активности снизился до нормы, и составил  $82,2 \pm 1,39\%$ . К моменту окончания эксперимента, однако, было зарегистрировано увеличение активности фермента до уровня  $90,6 \pm 2,38\%$ . Параллельно наблюдались сдвиги в сторону увеличения количества сегментоядерных лейкоцитов, не содержащих гранул фермента или с низким их содержанием, что повлекло за собой восстановление СЦК до нормы к 15-м суткам и некоторое снижение его на 21–28-е сутки до уровня  $2,00 \pm 0,045$  ед. и  $1,97 \pm 0,082$  ед. соответственно.

У животных 4-й группы на 11-е сутки наблюдалась резкая инактивация пероксидазной реакции. Процент клеток, содержащих гранулы фермента, снизился до  $64,0 \pm 2,92\%$ , что на 14,8% ниже показателей контрольных животных и на 29,2% – животных 3-й группы ( $p < 0,05$ ). При этом наблюдалось снижение показателей СЦК до  $1,84 \pm 0,076$  ед. за счет увеличения числа нейтрофильных гранулоцитов без признаков активации миелопероксидазы. Однако уже на 15-е сутки и до окончания эксперимента была зафиксирована практически 100%-ная пероксидазная активность сегментоядерных лейкоцитов, сопровождающаяся увеличением количества гранул фермента в цитоплазме

клеток (к 28-м суткам эксперимента СЦК данной группы составлял  $2,74 \pm 0,059$  ед., достоверно превышая показатели животных 2-й и 3-й групп).

У животных 5-й группы на 3-и сутки наблюдалось увеличение активности фермента (степень активации составляла  $99,6 \pm 0,40\%$ , СЦК –  $2,56 \pm 0,041$  ед.). К 5-м суткам эксперимента происходило некоторое снижение процента нейтрофилов с признаками пероксидазной активности до уровня  $97,0 \pm 1,84\%$ , средний цитохимический коэффициент уменьшился при этом на  $7,42\%$ . Дальнейшее увеличение дозы облучения на 9-е и на 11-е сутки приводило к 100%-ной активации сегментоядерных лейкоцитов. При этом наблюдалось параллельное нарастание числа клеток со средней и высокой степенью содержания гранул фермента, причем максимальный эффект был зафиксирован на 15-е сутки экспозиций – СЦК составлял  $2,85$  ед., достоверно превышая показатели в интактной группе на  $24,9\%$  ( $p < 0,05$ ).

К концу опытов в данной группе было отмечено некоторое снижение пероксидазной активности гранулоцитов до уровня  $97,4 \pm 1,43\%$ , а к 28-м суткам показатель составлял  $93,6 \pm 2,25\%$ , что, однако, было существенно выше аналогичных значений интактной группы.

### **3.5 Стереометрическая характеристика тимуса мышей при различных способах воздействия СДИКСС**

На гистологических срезах тимуса интактных животных всегда отчетливо различались корковое и мозговое вещество. Стереометрический анализ показал, что в среднем показатели корково-мозгового индекса (КМИ) не превышали  $2,15$ – $2,28$  ед., т.е. относительная площадь коркового вещества тимуса более чем в 2 раза превышала относительную площадь мозгового вещества.

На 3-и сутки в тимусе животных контрольной группы выявлялись деструктивные изменения, обычно наблюдаемые при неспецифической реакции на стресс: нечеткая граница между корковым и мозговым веществом, междольковая соединительная ткань отечная, с расширенными кровеносными сосудами, во внутридольковых периваскулярных пространствах выявлялось большое количество тучных клеток и эозинофильных гранулоцитов, тимические тельца практически не встречались. Описанные изменения сопровождалось резким сокращением корково-мозгового соотношения в тимусе животных. Аналогичная картина наблюдалась вплоть до 11-х суток эксперимента, когда на некоторых препаратах на фоне сохраняющейся отечности сосудов и большого количества мастоцитов в подкапсулярной зоне стала выявляться нечеткая граница между корковым и мозговым веществом. Положительные сдвиги в цитоархитектонике органа способствовали, нормализации КМИ, величина которого лишь на 21-е сутки эксперимента заметно превысила показатели интактных животных. В этот период стала хорошо различимой граница между корковым и мозговым веществом, в мозговом веществе выявлялись единичные тимусные тельца и немногочисленные мастоциты. К моменту окончания эксперимента, однако, КМИ несколько снизился, что, по-

видимому, следует рассматривать, как следствие пролонгирования воспалительных процессов в ранах животных.

Изучение изменений КМИ в тимусах животных 3-й группы показало, что облучение области ожогового повреждения в значительной степени определяло динамику структурных перестроек в органе. Если в течение первых 5-ти суток эксперимента картина морфофункционального состояния вилочковой железы практически не отличалась от контрольных показателей, то в более поздние сроки наблюдений значение КМИ дважды приближалось к показателям интактных животных – на 9-е и 15-е сутки, на 11-е сутки принимало минимальное для всех экспериментальных групп значение, а к моменту окончания эксперимента приобретало максимальное для данной группы значение.

Таблица 3 – Показатели корково-мозгового соотношения в тимусе животных экспериментальных групп в различные периоды наблюдений

Сроки набл., сутки	Группы животных				
	1-я (интактная)	2-я (контрольная)	3-я	4-я	5-я
3-и	2,15±0,136	1,66±0,094*	1,76±0,064* <sup>0</sup>	2,16±0,169* <sup>0</sup>	2,55±0,170*
5-е		1,78±0,156*	1,85±0,091* <sup>0</sup>	2,13±0,179* <sup>0+</sup>	1,98±0,272*
9-е		1,67±0,094*	2,04±0,223*	1,74±0,123* <sup>0+</sup>	2,11±0,166*
11-е		1,78±0,114*	1,63±0,091* <sup>0</sup>	1,98±0,169* <sup>0+</sup>	2,14±0,145*
15-е		1,59±0,088*	2,12±0,170* <sup>0</sup>	1,85±0,124* <sup>0+</sup>	2,10±0,137*
21-е		2,92±0,431*	1,74±0,103*	2,38±0,181**	2,06±0,009*
28-е		1,74±0,125*	2,55±0,261* <sup>0</sup>	2,10±0,141* <sup>0+</sup>	2,08±0,148*

Примечание: \* достоверные отличия от показателей интактных животных ( $p < 0,05$ ); <sup>0</sup> достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ( $p < 0,05$ ); \*\* достоверные отличия от показателей животных, на рану которых воздействовали светодиодами излучением красного спектра света ( $p < 0,05$ ).

Воздействие светом на область проекции тимуса у животных 4-й группы способствовало менее резкой, чем при воздействии на область раневого регенерата у животных 3-й группы, морфофункциональной перестройке в исследуемом органе: лишь на 9-е сутки эксперимента гистоструктура тимуса претерпевала изменения, характерные для начала акцидентальной инволюции: запустевание коркового вещества уменьшение численности тучноклеточной популяции, как следствие, снижение КМИ. Однако дальнейшее увеличение суммарной дозы облучения, способствовало быстрой нормализации состояния вилочковой железы и уже к 21-м суткам эксперимента структура тимуса большинства животных данной группы соответствовала показателям интактных животных.

Облучение СДИКСС зоны проекции тимуса у мышей 5-й группы, не подвергавшихся травматическим ожоговым воздействиям, не приводило к резким перестройкам в изучаемом органе, лишь на 3–5-е сутки эксперимента в корковом веществе отмечалось увеличение числа тучных и клеток макрофагов. Этот факт, по-видимому, следует рассматривать, как следствие адаптационной реакции тимуса на облучение, поскольку именно в указанный период эксперимента КМИ достигал своего максимального и минимального для данной группы значения (на 3-и и на 5-е сутки). В последующие сроки наблюдений расхождения с аналогичными показателями интактных животных не превышали 0,09 ед. (табл. 3).

### **3.6 Исследование влияния СДИКСС на морфофункциональное состояние мастоцитов тимуса**

Ожоговые повреждения кожи у животных контрольной группы вызывали значительное увеличение числа тучных клеток в строме тимуса на протяжении всего периода наблюдений. На 3-и сутки после начала эксперимента наблюдалась массовая дегрануляция мастоцитов. Коэффициент дегрануляции в этот период был максимальным и составлял  $0,72 \pm 0,033$ , достоверно превышая показатели животных интактной группы на 20% (табл. 4).

Через пять суток после нанесения ожогов количество тканевых базофилов в тимусе достигло своего максимума, составив  $219,2 \pm 13,34$  клеток на единицу площади. Клетки располагались группами, образуя скопления вдоль капсулы. При этом в тучноклеточной популяции отмечалось снижение удельного числа активно дегранулирующих форм, что стало причиной уменьшения коэффициента дегрануляции до  $0,55 \pm 0,030$  ед.

На 9-е сутки эксперимента было зафиксировано резкое снижение общего числа мастоцитов до  $92,8 \pm 7,18$ . Увеличение числа клеток в тучноклеточной популяции на 11-е и 15-е сутки и некоторое его снижение в течение 2-х последних недель наблюдений сопровождалось снижением коэффициента дегрануляции практически до показателей интактных мышей.

Уже к 5-м суткам после начала светового воздействия численность тканевых базофилов в тимусе мышей 3-й группы снизилась до  $121,2 \pm 3,77$  клеток на единицу площади, у животных 4-й группы – до  $72,6 \pm 5,26$ , что на 45% и 67% соответственно было ниже аналогичных показателей в контрольной группе. При этом отмечалось снижение числа активно дегранулирующих форм клеток. Коэффициент дегрануляции при облучении раневой поверхности составлял  $0,50 \pm 0,051$  ед., при облучении области проекции тимуса –  $0,60 \pm 0,37$  ед. На 11-е сутки эксперимента у мышей 3-й группы происходило снижение численности мастоцитов в тимусе до показателей интактных животных. Аналогичные изменения наблюдались у животных 4-й группы уже на 9-е сутки. Ежедневное облучение ожоговых регенератов у мышей 3-й группы вызывало заметное увеличение общего числа клеток относительно показателей интактных животных лишь к 21-м суткам наблюдений, при этом

коэффициент дегрануляции принимал минимальное значение по отношению к показателям других экспериментальных групп –  $0,42 \pm 0,020$  ед. Воздействие СДИКСС на область проекции тимуса в 4-й группе инициировало увеличение численности мастоцитов уже на второй неделе эксперимента (достигая максимума на 15 сутки –  $140,8 \pm 9,52$ ), после чего их количество постепенно снижалось, приближаясь к показателям контрольных животных. Коэффициент дегрануляции в данной группе оставался на уровне  $0,64-0,66$  ед. и снижался до исходных показателей только к концу 3-й недели терапии.

Таблица 4 – Коэффициент дегрануляции тучных клеток

Сроки набл., сутки	Группы животных				
	1-я (интактная)	2-я (контрольная)	3-я (облучение раны СДИКСС)	4-я (облучение тимуса с нанесением раны)	5-я (облучение тимуса без нанесения раны)
3-и	$0,58 \pm 0,013$	$0,72 \pm 0,033^*$	$0,73 \pm 0,025^{*0}$	$0,74 \pm 0,019^{*0+}$	$0,71 \pm 0,026^*$
5-е		$0,55 \pm 0,030^*$	$0,50 \pm 0,051^0$	$0,60 \pm 0,037^{0+}$	$0,58 \pm 0,023$
9-е		$0,70 \pm 0,032^*$	$0,57 \pm 0,046^0$	$0,56 \pm 0,034^{0+}$	$0,60 \pm 0,034$
11-е		$0,65 \pm 0,015^*$	$0,59 \pm 0,013^{*0}$	$0,66 \pm 0,047$	$0,55 \pm 0,019$
15-е		$0,56 \pm 0,039$	$0,55 \pm 0,026^{*0}$	$0,64 \pm 0,017^{*0+}$	$0,56 \pm 0,033$
21-е		$0,56 \pm 0,044$	$0,42 \pm 0,020^{*0}$	$0,59 \pm 0,039^{0+}$	$0,56 \pm 0,009$
28-е		$0,58 \pm 0,038$	$0,64 \pm 0,021^{*0}$	$0,57 \pm 0,027^{*0+}$	$0,58 \pm 0,015$

Примечание: \* достоверные отличия от показателей интактных животных ( $p < 0,05$ ); <sup>0</sup> достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ( $p < 0,05$ ); + достоверные отличия от показателей животных, на рану которых воздействовали светодиодным излучением красного спектра света ( $p < 0,05$ ).

У животных 5-й экспериментальной группы наблюдалось достоверное увеличение общего числа тканевых базофилов в соединительнотканной капсуле и периваскулярных пространствах вилочковой железы в течение всего периода наблюдений. Уже на 3-и сутки было зафиксировано превышение аналогичных показателей интактных животных на 54%, на 5-е сутки различие составляло 59%. Однако дальнейшее увеличение суммарной дозы облучения вызывало некоторое угнетение тучноклеточной реакции и в течение второй недели эксперимента общая численность популяции не превышала 109,8 клеток на единицу площади. Спустя три недели после начала терапевтических воздействий в тимусе животных 5-й группы были выявлены вторичные изменения в сторону увеличения суммарного количества мастоцитов (их средняя численность в этот период составляла  $163,0 \pm 5,79$  клеток и была максимальной для данной группы животных). К исходу четвертой недели

численность клеток в популяции в 1,9 раза превышала аналогичные показатели интактных животных. На 3-и сутки наблюдалось достоверное увеличение коэффициента дегрануляции, который в этот период был максимальным и составлял  $0,71 \pm 0,026$  ед. ( $p < 0,05$ ). Дальнейшее увеличение суммарной дозы облучения не вызывало существенных различий между показателями коэффициента дегрануляции мышей, подвергавшихся ежедневным экспозициям СДИКСС и интактными животными.

#### 4 ВЫВОДЫ

1. Различия в способах подведения излучения к организму, не вызывая существенных изменений в определенной стадийности и взаимосвязи морфофункциональных реакций, присущих данному типу раневого процесса, оказывают определенное влияние на его отдельные звенья. Биологический эффект светодиодного излучения обусловлен его способностью индуцировать активность эпителиальных и соединительнотканых элементов, что, в конечном итоге, приводило к значительному сокращению продолжительности всех стадий раневого процесса, сопровождающемуся формированием полноценной соединительной ткани без признаков рубцевания.

2. Исследования влияния светодиодного излучения на степень эпителизации раневой поверхности кожи свидетельствуют о стимулирующем действии СДИКСС на процессы регенерации эпителия при заживлении ожоговых ран. При этом облучение непосредственно зоны раневого дефекта в среднем на одну – полторы недели сокращает сроки формирования полноценной эпителиальной ткани.

3. Воздействие светодиодного излучения красного диапазона на раневую поверхность и область проекции тимуса, не изменяя общих закономерностей реакции тучных клеток при воспалительном процессе, увеличивает их функциональную активность, которая выражается в интенсивной миграции клеток к зоне воспаления в первые дни после нанесения ожоговых повреждений, и повышении количества дегранулирующих форм в более поздние сроки репаративных процессов.

4. Сравнительный анализ показателей периферической крови и лейкоцитарного индекса интоксикации у мышей контрольной и опытных групп показал, что воздействие красным светом в выбранном диапазоне независимо от способа доставки его к организму способствует быстрой нормализации гемограммы в целом, активизирует деятельность ферментных систем нейтрофильных гранулоцитов, что, несомненно, можно отнести к хорошим прогностическим признакам при лечении кожных ожоговых ран с помощью СДИКСС.

5. Воздействие светодиодного излучения красного спектра света на область проекции тимуса вызывало у мышей значительное увеличение в крови процента нейтрофилов с признаками активации миелопероксидазы, сопро-

вождающееся сдвигами в сторону увеличения клеток с высоким содержанием гранул фермента.

6. Способы коррекции репаративных процессов в ожоговой ране с помощью СДИКСС в значительной степени определяют степень выраженности морфофункциональных изменений наблюдаемых при акцидентальной инволюции тимуса. Облучение области проекции тимуса способствует поддержанию структурно-функционального состояния органа.

7. Изменение количественного состава, а также гетерогенности тучноклеточной популяции вилочковой железы в условиях заживления ожоговых ран кожи связано со способом подведения световой энергии к биологическому организму. Коррекция репаративных процессов в коже воздействием светодиода на область проекции тимуса изменяла общие закономерности реакции стромальных мастоцитов на повреждение лишь на ранних сроках течения ожоговой болезни. Изменение функциональной активности тучных клеток вилочковой железы при облучении раневой поверхности выражалась в менее резком снижении их количества в популяции на протяжении всего периода наблюдений, а также характеризовалось более низкой степенью дегранулирования.

## **5 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Для лечения термических ожогов у животных следует воздействовать на зону раневого дефекта и область проекции тимуса светодиодным излучением красного спектра света мощностью 2,5 мВт в течение 2 – 4 минут.

2. Результаты исследований рекомендуем включить в учебный процесс высших учебных заведений при изучении морфологии животных, гистологии, цитологии и эмбриологии, патологической анатомии, ветеринарной хирургии, а также использовать при написании соответствующих учебников и учебных пособий.

## **6 СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**

1. Столбовская, О.В. Морфологическая характеристика тимуса в ходе репаративной регенерации ожоговой раны кожи у животных /О.В. Столбовская, Е.Е. Лаврушина //Морфология. – 2004. –Т. 126, №4. – С.117.

2. Столбовская, О.В. Тучные клетки тимуса в процессе заживления ожоговой раны кожи у мышей /О.В. Столбовская, Е.Е. Лаврушина //Морфология. – 2006. – Т. 129, №4. – С.119.

3. Лаврушина, Е.Е. Использование светодиода в терапии термических ожогов: рекомендации /Е.Е. Лаврушина, Г.М. Топурия – Дмитровград, 2006. – 22 с.

4. Лаврушина, Е.Е. Особенности регенерации эпителия кожи в условиях воздействия некогерентного излучения красного спектра /Е.Е. Лаврушина, Г.М. Топурия //Актуальные проблемы патологии, морфологии и онкологии



животных: сб. материалов всерос. научно-практ. конференции – Новочеркасск, 2007. – С.3–5.

5. Лаврушина, Е.Е. Состояние мастоцитов мышей с ожоговыми повреждениями кожи в условиях воздействия низкointенсивного светового излучения /Е.Е. Лаврушина, Г.М. Топурия //Известия Оренбургского государственного аграрного университета – 2007. – №4 (16). – С.110–111.

6. Лаврушина, Е.Е. Экологически безопасный способ лечения ожоговых ран /Е.Е. Лаврушина //Вестник Оренбургского государственного университета. – 2007. – №75. – С.185–188.

7. Столбовская, О.В. Оценка жизнеспособности и гибели кератиноцитов в эпидермисе при ожоговом повреждении кожи мышей в эксперименте /О.В. Столбовская, Е.Е. Лаврушина, Т.А. Александрова //Медико-физиологические проблемы экологии человека: сб. материалов всерос. научно-практ. конференции – Ульяновск, 2007. – С.250–251.

8. Лаврушина, Е.Е. Влияние светодиодного излучения на реактивность нейтрофильных лейкоцитов периферической крови /Е.Е. Лаврушина //Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины» – 2008. – Т. 44, вып. 1. – С.141–143.

9. Лаврушина, Е.Е. Показатели крови животных при экспериментальной ожоговой травме /Е.Е. Лаврушина, Г.М. Топурия //Известия Оренбургского государственного аграрного университета.–2008.– №2(18).–С.103–104.

10. Лаврушина, Е.Е. Применение светодиодного излучения для коррекции процессов регенерации кожи: монография /Е.Е. Лаврушина, О.В. Столбовская, Г.М. Топурия. – Ульяновск: УГСХА, 2008. – 128 с.

**Лаврушина Елена Евгеньевна**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТООВОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПРОЦЕССОВ  
РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ  
(экспериментальное исследование)**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Подписано в печать 18.11.08.

Формат 60×84/16. Усл. печ. л. 1,0. Печать трафарстная.

Гарнитура Times New Roman.

Тираж 100 экз. Заказ № 3173.

Издательский центр ОГАУ  
460795, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18. Тел.: (3532) 77-61-43

Отпечатано в Издательском центре ОГАУ