

УДК 616-089.5	UDC 616-089.5
<b>ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДИНАМИКУ ТЕЧЕНИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА</b>	<b>STUDY OF THE INFLUENCE OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION ON THE DYNAMICS OF THE WOUND PROCESS</b>
Пушкарь Юрий Юрьевич – к.м.н. ГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, Россия	Pushkar' Yuriy Yurievich FSBEA HE "Kuban State Medical University", Krasnodar , Russia
Бадиков Дмитрий Валерьевич ООО «МИП "Кристалл-КубГУ"» ГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, Россия	Badikov Dmitryi Valerievich LLC "MIP" Kristall-KubGU ", FSBEA HE "Kuban State Medical University", Krasnodar , Russia
Пыхтеев Вадим Сергеевич ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», ГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, Россия	Pykhteev Vadim Serheevich SBIHC "Regional Clinical Hospital № 2", FSBEA HE "Kuban State Medical University", Krasnodar , Russia
Одной из актуальных проблем современной хирургии являются острые и хронические гнойно-некротические заболевания мягких тканей. Несмотря на прогресс в хирургическом и медикаментозном лечении этой категории больных, проблема раннего и полноценного восстановления функции травмированной зоны остается чрезвычайно актуальной. Разработка экспериментального устройства для лечения чистых и гнойных ран на основе низкоинтенсивного лазерного излучения направлена на решение этой важной задачи. Исследовано воздействие лазерного излучения с длиной волны 4–6 мкм на биологические объекты.	One of the urgent problems of modern surgery is acute and chronic purulent-necrotic soft tissue diseases. Despite the progress in the surgery and conservative treatment of these patients, the problem of early and complete restoration of the function of the injured zone remains extremely urgent. To solve the problem, an experimental device was developed for the treatment of clean and purulent wounds based on low-intensity laser radiation. The effect of laser radiation with a wavelength of 4–6 microns on biological objects was studied.
Ключевые слова: НИЗКОИНТЕНСИВНОЕ ЛАЗЕРНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ, ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКАЯ РАНА, ЛАЗЕРОТЕРАПИЯ, ГНОЙНАЯ ХИРУРГИЯ, СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ	Keywords: LOW-INTENSITY LASER RADIATION, PURULENT-NECROTIC WOUND, LASEROTHERAPY, PURULENT SURGERY, VASCULAR SURGERY

## **Резюме**

Одной из актуальных проблем в современной хирургии являются острые и хронические гнойно-некротические заболевания мягких тканей. В настоящее время, несмотря на прогресс в хирургическом и медикаментозном лечении этой категории больных, проблема раннего и полноценного восстановления функции травмированной зоны сохраняется. С целью лечения чистых и гнойных ран разработано экспериментальное устройство на основе низкоинтенсивного лазерного излучения. Исследовано его воздействие с длиной волны 4–6 мкм на биологические объекты.

## **Введение**

Благоприятное течение раневого процесса поврежденных мягких тканей зависит от факторов, повышающих скорость репарации, а также направленных на борьбу с раневыми осложнениями [1]. Ведущую роль в этом играют нейтрофилы за счет имеющихся в их клетках активных веществ гранулярного аппарата, а именно – протеолитических и бактерицидных протеинов.

Ускорить процессы восстановления мягких тканей возможно благодаря воздействию низкоинтенсивного лазерного излучения, потенцируя эти процессы на уровне клеток [2–6]. В лаборатории новейших технологий КубГУ (г. Краснодар) был сконструирован первичный образец лазера, генерирующего волны длиной 4–6 мкм. Этот спектр излучения был использован в проведенном нами эксперименте. Работа внутриклеточных микробицидных систем, содержащихся в цитоплазматических гранулах и везикулах, определяет свойства нейтрофильных гранулоцитов. Поэтому основное внимание было уделено изучению состояния и активности микробицидных компонентов.

## **Материал и методы исследования**

На основе анализа литературных источников изучено влияние лазерного излучения (ЛИ) в различных диапазонах спектра на биологические

ткани в условиях нормы. Лучшей проникающей способностью (сквозь кожу) характеризовались волны длиной 0,65–1,2 мкм. При этом инфракрасные (ИК) лучи с волнами длиной 0,8–1,0 мкм (ближний диапазон ИК) проникали в глубокие слои до 7 см. Так, при длине волны 0,45–0,59 мкм глубина проникновения составляла 0,5–2,5 мм, а при 0,63 мкм – 25 мм.

Ткани характеризуются поглощающей способностью, но они поглощают лазерное излучение избирательно. Например, кровеносные сосуды поглощают инфракрасное излучение с длиной волны 0,193–0,308 мкм (ультрафиолетовый диапазон) и 2,94 мкм (ИК-диапазон), глубина проникновения при этом составляет 1–20 мкм. В мягкие ткани лазерное излучение с длиной волны 0,63 мкм проникает на глубину 15 мм, а с длиной волны 0,8–1 мкм – на глубину 40 мм, в костную ткань – на 25 мм. В диапазоне 0,6–1,4 мкм кожа поглощает до 40 % излучения, мышцы и кости – до 80 %, паренхиматозные органы – до 100 %.

На базе Кубанского государственного университета (г. Краснодар) в лаборатории новейших технологий был разработан лабораторный образец устройства, генерирующего низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) с длиной волны 4–6 мкм, для исследования его влияния на биологические ткани в норме и при патологии (рисунки 1 и 2).



Рисунок 1 – Первичный образец малогабаритного лазерного излучателя



Рисунок 2 – Корпус лазерного излучателя 4–6 мкм для мелкосерийного производства

## Результаты и их обсуждение

На основе анализа литературных источников изучено влияние лазерного излучения (ЛИ) различного спектра на биологические ткани в условиях нормы. Лучшей проникающей способностью (сквозь кожу) характеризовались волны длиной 0,65–1,2 мкм. При этом инфракрасные (ИК) лучи с волнами длиной 0,8–1,0 мкм (ближний диапазон ИК) проникали на глубину до 7 см (при 0,45–0,59 мкм – глубина 0,5–2,5 мм, а при 0,63 мкм – 25 мм).

Ткани обладают поглощающей способностью, но они поглощают лазерное излучение селективно. Так, кровеносные сосуды поглощают инфракрасное излучение с длиной волны 0,193–0,308 мкм (ультрафиолетовый диапазон) и 2,94 мкм (ИК-диапазон). Глубина проникновения при этом составляет 1–20 мкм. В мягкие ткани ЛИ с длиной волны 0,63 мкм проникает на глубину 15 мм; 0,8–1,0 мкм – на глубину 40 мм, а в костную ткань – 25 мм. В диапазоне 0,6–1,4 мкм кожа поглощает до 40 % излучения, мышцы и кости – до 80 %, паренхиматозные органы – до 100 %.

Изучению подвергались кровь из вены и отделяемое из раны опытных животных (крысы-самцы). Животным после поверхностной анестезии раствором новокаина (0,25 %) создавали модели раневых дефектов мягких тканей спины. Выделено три группы животных ( $n = 15$ , по пять в каждой): 1-я группа – контрольная, 2-я и 3-я – экспериментальные. Во 2-й группе поверхность раны подвергалась воздействию низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) с длиной волны 4–6 мкм и расстояния 35 см, с продолжительностью экспозиции 4 мин каждый день с промежутками в течение двух недель. В 3-й группе продолжительность облучения составляла 6 мин. В качестве источника, генерирующего низкоинтенсивное лазерное излучение, использован образец, сконструированный в лаборатории новейших технологий Кубанского государственного университета (г. Краснодар).

Венозную кровь брали перед началом эксперимента, а также на 1-й, 4-й, 7-й и 14-й день. Полученное раневое отделяемое исследовали на 1-й, 4-й, 7-й день соответственно. Мазки крови и отпечатки раневого отделяемого фиксировали формалином. Активность миелопероксидазы оценивали по модифицированной методике Sato [7]. В отпечатках отделяемого из раны считали количество лейкоцитов. Во время проведения опыта ежедневно осуществляли динамическое наблюдение (включая фотографирование в макро- и микрорежиме) за состоянием ран: диаметр дефекта, характер и объем отделяемого, наличие / отсутствие грануляций, площадь эпителизации, оволосения в зоне созданной раны.

При обработке полученных промежуточных данных было обнаружено, что уровень активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитарных клеток крови в контрольной группе до проведения опыта был равен  $2,30 \pm 0,05$  условных единиц, а через сутки после образования раны активность этого маркера сократилась на 6 % ( $2,2 \pm 0,15$  условных единиц). К четвертому дню доля миелопероксидазы в крови снизилась до  $1,80 \pm 0,08$  условных единиц, к концу первой недели –  $1,56 \pm 0,04$  условных единиц, а ко второй неделе –  $1,23 \pm 0,01$  условных единиц.

Активность миелопероксидазы нейтрофилов раневого отделяемого в группе контроля в 1-й, 4-й и 7-й день была  $2,43 \pm 0,31$ ,  $2,66 \pm 0,15$  и  $2,1 \pm 0,02$  условных единиц соответственно. Таким образом, можно сделать вывод об уменьшении активности миелопероксидазы на 7-е сутки опыта.

Доля катионных белков нейтрофилов крови крыс группы контроля составила  $1,27 \pm 0,081$  условных единиц, через день после образования раны их концентрация увеличилась на 15 % ( $1,46 \pm 0,09$  условных единиц), на 4-е сутки –  $1,07 \pm 0,01$  условных единиц. На 7-е сутки содержание возросло и составляло  $1,28 \pm 0,05$  условных единиц, через две недели содержание катионных белков примерно было равно исходному значению –  $1,22 \pm 0,08$ . В экссудате доля катионных белков в 1-й, 4-й и 7-й день равномерно

снижалась –  $1,32 \pm 0,05$ ,  $1,1 \pm 0,09$  и  $1,01 \pm 0,01$  условных единиц соответственно.

Объем отделяемого из раны значительно сокращался к седьмым суткам опыта, ко второй неделе экссудат полностью отсутствовал. Репаративный процесс протекал вяло, рост грануляций и процесс эпителизации – медленно, даже на второй неделе определялись незажившие зоны.

Во 2-й опытной группе с воздействием низкоинтенсивного лазерного излучения в 1-й день после создания раны активность миелопероксидазы возросла на 13 % ( $2,51 \pm 0,02$  условных единиц). На 4-й день опыта прослеживался рост концентрации миелопероксидазы ( $2,64 \pm 0,07$  условных единиц). К концу первой недели активность начала снижаться ( $2,36 \pm 0,02$  условных единиц). На второй неделе активность миелопероксидазы значительно снизилась и составила  $1,04 \pm 0,03$  условных единиц. В отделяемом из раны активность миелопероксидазы была  $2,75 \pm 0,06$ ,  $2,95 \pm 0,09$  и  $2,68 \pm 0,02$  условных единиц в 1-й, 4-й и 7-й день соответственно.

После воздействия лазером концентрация катионных белков крови через сутки увеличилась на 15 % ( $1,40 \pm 0,08$  условных единиц). На четвертые сутки концентрация катионных белков возросла до  $1,58 \pm 0,05$  условных единиц. На 7-й и 14-й день содержание катионных белков не изменилось –  $1,66 \pm 0,1$  и  $1,52 \pm 0,01$  условных единиц соответственно. При этом уровень катионных белков нейтрофилов раневого отделяемого в 1-й, 4-й и 7-й день составлял  $1,28 \pm 0,01$ ,  $1,44 \pm 0,02$  и  $1,60 \pm 0,03$  условных единиц соответственно.

Объем отделяемого из раны значительно снизился к концу первой недели эксперимента, а ко второй неделе вовсе не определялся. Можно сделать вывод о том, что во второй группе животных репарация искусственно созданной раны происходила активно, наблюдался стремительный рост грануляций, эпителизация дефекта почти полностью была завершена. К концу

первой недели наблюдались небольшие незакрытые фрагменты с незначительным объемом экссудата.

В 3-й группе животных с более длительным низкоинтенсивным лазерным излучением через сутки после создания раны активность миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитарных клеток составляла  $2,38 \pm 0,02$  условных единиц (т. е. соответствовала группе контроля). К четвертым суткам активность миелопероксидазы увеличилась на 13 % ( $2,92 \pm 0,02$  условных единиц). Однако на 7-е сутки активность уменьшилась до  $2,57 \pm 0,01$  условных единиц, а ко второй неделе эксперимента она была  $0,72 \pm 0,01$ . Концентрация катионных белков нейтрофильных гранулоцитов крови у экспериментальных животных через день после облучения увеличилась на 40 % ( $1,70 \pm 0,07$  условных единиц). К четвертым суткам содержание катионных белков почти не изменилось. К концу первой недели концентрация катионных белков увеличилась на 16 % ( $1,93 \pm 0,04$  условных единиц), а на второй неделе содержание снизилось и составляло  $1,60 \pm 0,05$  условных единиц.

Активность миелопероксидазы в раневом отделяемом (рисунок 3) в 1-й, 4-й и 7-й день была равна  $2,74 \pm 0,06$ ,  $2,84 \pm 0,09$  и  $2,54 \pm 0,02$  условных единиц соответственно, а содержание катионных белков экссудата –  $1,25 \pm 0,01$ ,  $1,75 \pm 0,02$  и  $1,53 \pm 0,01$  соответственно (рисунок 4).

Проблема репарации чистых и гнойных ран мягких тканей различных локализаций, несмотря на значительную эффективность консервативного и хирургического лечения, остается актуальной. Важное место в этом процессе занимают нейтрофильные гранулоциты за счет имеющихся в их клетках активных веществ гранулярного аппарата, а именно – протеолитических и бактерицидных протеинов (ферментов) – миелопероксидазы [8] и катионных белков (рисунок 3) [9].

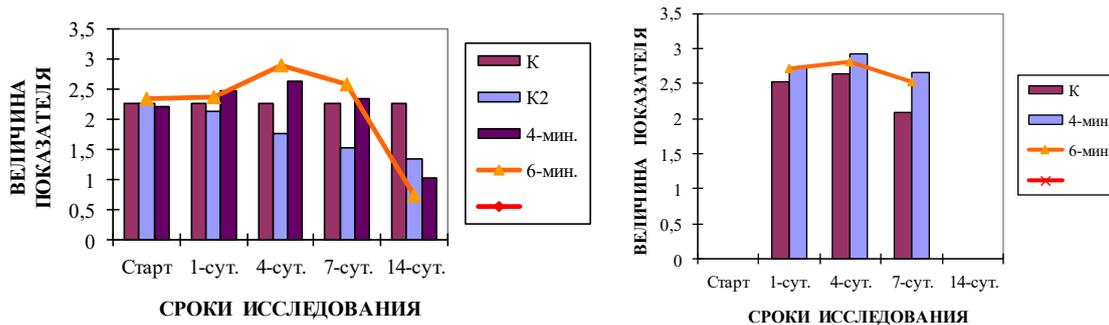


Рисунок 3 – Активность миелопероксидазы нейтрофилов крови (1) и раневого отделяемого (2) в условиях лазерного облучения

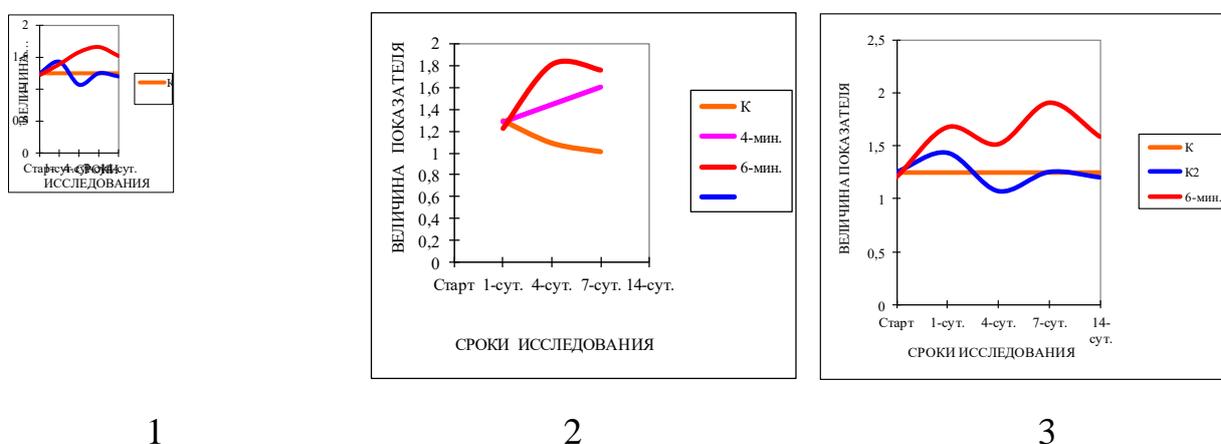


Рисунок 4 – Содержание катионного белка нейтрофилов крови (1, 2) и в раневом отделяемом (3) в условиях лазерного облучения

Поэтому на основе полученных данных можно сделать промежуточный вывод о течении раневого процесса. В контрольной группе животных без применения лечения (отсутствия воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения) в течение всего периода исследования уровень активности миелопероксидазы и концентрация катионных белков снижались (с первых суток). При этом в раневом отделяемом наблюдалось увеличение содержания лейкоцитов. Ко второй неделе эксперимента полного восстановления искусственно созданных дефектов мягких тканей не произошло.

У животных 2-й группы при облучении раны в течение 4 мин активность миелопероксидазы на протяжении четырех суток значительно увеличивалась. Однако ко второй неделе она резко снизилась, достигая в два

раза меньшего значения от начального показателя. Концентрация катионных белков также была высокой в сравнении с контрольной группой. Аналогично происходили изменения в нейтрофильных гранулоцитах экссудата.

### **Заключение**

При воздействии на рану лазерного излучения длиной волны 4–6 мкм в течение 4 мин проявляется местное стимулирующее и резорбтивное действие, а также происходит активация процесса кроветворения в костном мозге. В результате происходит ускорение репарации тканей – эпителизация и восстановление поврежденных тканей, волосяного покрова регистрировались на 9-й день. Скорость заживления также значительно увеличивалась при воздействии лазерным излучением той же длиной волны в течение 6 мин. Показатели активности миелопероксидазы и уровня катионных белков не отличались от значений второй опытной группы с экспозицией 4 мин.

### Список литературы

1. Кузнецов Н. А. и др. Лечение ран : учебно-метод. пособие / Н. А. Кузнецов [и др.]. – М.: РГМА, 2004. – 344 с.
2. Rørvig, S., Østergaard, O., Heegaard, N. H. H., & Borregaard, N. Proteome profiling of human neutrophil granule subsets, secretory vesicles, and cell membrane: correlation with transcriptome profiling of neutrophil precursors // *Journal of Leukocyte Biology*, 94(4), 711–721. doi:10.1189/jlb.1212619.
3. Grazul-Bilska, A. T., Johnson, M. L., Bilski, J. J. et al. Wound healing: The role of growth factors // *Drugs Today (Barc)*. – 2003. Oct; 39(10):787–800. doi:10.1358/dot.2003.39.10.799472.
4. Толстых М. П. Молекулярно-клеточные механизмы лазерной и антиоксидантной коррекции заживления ран / М. П. Толстых, П. И. Толстых, В. Г. Ширинский [и др.] // *Лазерная медицина*. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 40–46.
5. Mizusaki I. M., Iyomasa., Mamie Mizusaki., Caroline Leão., et al. Ultrastructure and Light Microscope Analysis of Intact Skin after a Varying Number of Low Level Laser Irradiations in Mice // *BioMed Research International*. – 2014. – 506051 p.
6. Nagib P. R., Gameiro J., da Cost T. A., Di Gangi R., et al. Effect of HeNe laser irradiation on extracellular matrix deposition and expression of cytokines and chemokines in paracoccidioidomycotic lesions // *Photochem Photobiol*. – 2010. Jul-Aug. – № 86(4). – P. 920–4. doi: 10.1111/j.1751–097.
7. Бакуев М. Ж. Особенности секреции миелопероксидазы и хемилюминесцентного ответа нейтрофилов человека при контакте со стимуляторами различной природы / М. Ж. Бакуев, М. Ж. Саидов, А. А. Бутаков // *Иммунология*. –1991. – № 1. – С. 15–19.
8. Gabr, S. A., & Alghadir, A. H. Evaluation of the Biological Effects of Lyophilized Hydrophilic Extract of *Rhus coriaria* on Myeloperoxidase (MPO) Activity, Wound Healing, and Microbial Infections of Skin Wound Tissues. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–14. doi:10.1155/2019/58615379.
9. Rorvig S., Ostergaard O., Niels H., et al. Proteome profiling of human neutrophil granule subsets, secretory vesicles, and cell membrane: correlation with transcriptome profiling of neutrophil precursors // *J. Leukoc Biol*. – 2013 – № 6; 94(4). – P. 711–21.