

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН ВЫСОКОИНТЕНСИВНЫМ ИМПУЛЬСНЫМ ШИРОКОПОЛОСНЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ

В.С. Егоров^{1,2}, А.Ю. Филимонов¹, С.М. Чудных^{1,2,3}, Х.А. Абдувосидов^{1,3,4},
И.А. Чекмарева^{5,6}, О.В. Паклина^{1,5}, Л.М. Баранчугова⁴, А.В. Кондратьев⁷

¹Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ,
Москва, Россия

²Российский университет медицины, Москва, Россия

³Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Россия

⁴Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

⁵НМИЦ Хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

⁶Российский Университет дружбы народов, Москва, Россия

⁷Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана, Москва, Россия

Резюме

Целью исследования явилось изучение эффективности высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения инфицированных ран. Проведено морфологическое исследование препаратов ран 105 крыс линии Wistar, которым в эксперименте моделировали инфицированные раны (три группы животных). В 1-й группе для лечения ран использовали высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение, во 2-й группе – традиционное ультрафиолетовое облучение, и в 3-й применяли только антисептик. Оценку эффективности производили до лечения, на 7-е, 14-е и 21-е сутки лечения. До начала лечения картина ран соответствовала фазе острого воспаления. На 7-й день в 1-й группе морфологическая картина соответствовала фазе пролиферации. Во 2-й и 3-й группах отек и инфильтрация к этому сроку сохранялись. К 14-му дню в 1-й группе наблюдали признаки формирования грануляционной ткани и переход ран в стадию регенерации. Во 2-й группе уменьшалась инфильтрация, появлялись новые капилляры, увеличивалось количество фибробластов. В 3-й группе, воспалительные явления сохранялись. К 21-му дню в первой группе наблюдалось ремоделирование соединительной ткани с признаками образования нежного рубца. Во 2-й группе животных наблюдались явления ремоделирования соединительной ткани. В препаратах ран 3-й группы инфильтрация уменьшена, новые сосуды образуются с замедлением. Таким образом, использование высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения инфицированных ран в более ранние сроки купирует воспаление, активизирует местную иммунную реакцию и ускоряет репаративные процессы.

Ключевые слова: инфицированные раны, раневой процесс, высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение, ультрафиолетовое облучение, инфильтрация, ремоделирование соединительной ткани.

Для цитирования: Егоров В.С., Филимонов А.Ю., Чудных С.М., Абдувосидов Х.А., Чекмарева И.А., Паклина О.В., Баранчугова Л.М., Кондратьев А.В. Морфологическая оценка эффективности лечения инфицированных ран высокоинтенсивным импульсным широкополосным облучением // Biomedical Photonics. – 2024. – Т. 13, № 3. – С. 31–41. doi: 10.24931/2413–9432–2024–13–3–31–41

Контакты: Абдувосидов Х.А., e-mail: sogdiana99@gmail.com

MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF TREATING INFECTED WOUNDS WITH HIGH-INTENSITY PULSED BROADBAND IRRADIATION

Egorov V.S.^{1,2}, Filimonov A.Yu.¹, Chudnykh S.M.^{1,2,3}, Abduvosidov Kh.A.^{1,3,4}, Chekmareva I.A.^{5,6}, Paklina O.V.^{1,5}, Baranchugova L.M.⁴, Kondrat'ev A.V.⁷

¹Moscow clinical scientific center n.a. A.S. Loginov, Moscow, Russia

²Russian university of medicine, Moscow, Russia

³Tver state medical university, Tver, Russia

⁴Russian biotechnological university, Moscow, Russia

⁵A.V. Vishnevsky national medical research center of surgery, Moscow, Russia

⁶Peoples' friendship university of Russia, Moscow, Russia

⁷Bauman Moscow state technical university, Moscow, Russia

Abstract

The objective of this study was to investigate the effectiveness of high-intensity pulsed broadband irradiation in treating infected wounds. A morphological study was conducted on wound specimens from 105 Wistar rats, in which infected wounds were experimentally induced (three groups). The first group was treated with high-intensity pulsed broadband irradiation, the second group received traditional ultraviolet irradiation, and the third group was treated only with antiseptics. Monitoring was performed before treatment, on the 7th, 14th, and 21st days of treatment. Non-parametric statistical methods were used for data analysis. Prior to treatment, the wounds exhibited signs of the acute inflammation phase. By the 7th day, the first group's wounds were in the proliferation phase. In the second and third groups, edema and infiltration persisted. By the 14th day, the first group's wounds showed signs of granulation tissue formation and transition to the regeneration stage. In the second group, there was a reduction in infiltration, the appearance of new capillaries, and an increase in fibroblasts. In the third group, inflammatory symptoms persisted. By the 21st day, the first group showed remodeling of connective tissue with signs of delicate scar formation. In the second group, signs of connective tissue remodeling were observed, while in the third group, there was reduced infiltration with slow formation of new vessels. Thus, the use of high-intensity pulsed broadband irradiation in the early stages effectively mitigates inflammation, activates local immune response, and accelerates reparative processes.

Keywords: infected wounds, wound healing process, high-intensity pulsed broadband irradiation, ultraviolet irradiation, infiltration, connective tissue remodeling.

For citations: Egorov V.S., Filimonov A.Yu., Chudnykh S.M., Abduvosidov Kh.A., Chekmareva I.A., Paklina O.V., Baranchugova L.M., Kondrat'ev A.V. Morphological evaluation of the effectiveness of treating infected wounds with high-intensity pulsed broadband irradiation, *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13, no. 3, pp. 31–41. doi: 10.24931/2413–9432–2024–13–3 –31–41

Contacts: Abduvosidov Kh.A., e-mail: sogdiana99@gmail.com

Введение

На сегодняшний день врачи многих специальностей применяют различные физические методы воздействия при лечении большого количества заболеваний, в том числе и воспалительных. Так, в хирургии широко применяют методы фототерапии, которые включают в себя лазерное и ультрафиолетовое облучение тканей.

В связи с высокой лекарственной устойчивостью микроорганизмов некоторые авторы предлагают искать альтернативные пути лечения инфицированных ран с применением физических методов воздействия [1, 2]. Чувствительность многих микроорганизмов к ультрафиолетовому излучению хорошо известна и тщательно охарактеризована. За последнее десятилетие противомикробная терапия, основанная на применении оптического излучения, достигла значительных успехов в борьбе с устойчивостью к антибиотикам среди различных штаммов микроорганизмов. Данный способ лечения включает методы с использованием противомикробных свойств синего света, противомикробную фотодинамическую терапию и бактерицидное ультрафиолетовое облучение. Фототерапия имеет преимущество перед традиционными антибиотиками, поскольку она быстро уничтожает микробные клетки и вероятность развития у микробов фоторезистентности низка. Как утверждают многие авторы, антимикробные подходы на основе оптического излучения имеют большие перспективы в отношении лечения устойчивых к антибиотикам инфекций и связанных с ними заболеваний [3, 4, 5].

По данным экспериментальных и клинических исследований использование технологий на основе высокоинтенсивного ультрафиолетового излучения сплошного спектра позволяет в кратчайшие сроки снизить контаминацию инфицированных ран, что дает возможность рекомендовать применение таких фототерапевтических устройств для лечения тяжелых инфекционных заболеваний, протекающих на фоне выраженных иммунодефицитных и аллергических явлений [6]. Воздействие импульсного высокоинтенсивного оптического облучения является высокоэффективным методом, обладающим мощнейшим биоцидным и иммуностимулирующим действием [7].

В настоящее время в литературных источниках имеется много работ, посвященных клинической, бактерицидной и иммунологической эффективности применения различных методов фототерапии, при этом редко встречаются исследования, где подробно описаны морфологические основы эффективности их применения, в том числе и ультрафиолетового облучения.

Наша работа посвящена изучению эффективности высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения при лечении инфицированных ран с помощью морфологических методов исследования.

Материалы и методы

Проведено морфологическое исследование препаратов ран 105 животных, которым в эксперименте моделировали инфицированные раны. Исследование было

одобрено Межвузовским комитетом по этике (выписка из протокола № 06-23 от 15.06.23) и проведено в условиях вивария ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России. Для эксперимента использованы половозрелые самцы крыс линии Wistar, массой тела 200–250 гр. Инфицированные раны моделировали в асептических условиях после обезболивания 2%-ым раствором ксилазина и золептила 100. Разрезали кожу в области холки диаметром 20 мм. Выполняли гемостаз, после чего в рану вносили триггер в виде марлевого шарика, смоченного смесью культур из контрольных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* в равных объемах и разведениях, содержащей в 1 мл 10^9 микробных тел. Рану с триггером ушивали, на следующие сутки снимали швы, удаляли триггер и разделяли животных случайной выборкой на три группы. Ежедневно всем без исключения животным всех групп проводили туалет раны 0,1% раствором хлоргексидина.

Животным 1-й (основной) группы ($n=30$) в ходе лечения было выполнено высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение. Данную методику выполняли при помощи аппарата, на основе импульсной ксеноновой лампы типа ИНП 5/60, работающей в импульсно-периодическом режиме с частотой импульсов 5 Гц и средней электрической мощностью 100 Вт. Средняя мощность излучения лампы в УФ-С диапазоне спектра (200–280 нм) составляла 3 Вт, импульсная мощность УФ-С излучения – 24 кВт. Программное обеспечение использованного аппарата включало следующие режимы терапии: 1-й режим – 50 импульсов с длительностью цикла облучения 10 с; 2-й режим – 100 импульсов в течение 20 с; 3-й режим – 200 импульсов с длительностью 40 с. Учитывая обсемененность и обширность моделированных ран, для борьбы с инфекцией и купирования воспаления облучение ран в первые пять дней лечения проводили с использованием 3-го режима с расстоянием 5 см от раны, начиная с шестого дня лечения и последующие пять дней использован режим 2 на расстоянии 10 см от ран.

На раны животных 2-й группы ежедневно, в течение 10 дней быз-минутное традиционное ультрафиолетовое облучение аппаратом ОУФК-01 «Солнышко», на основе УФ-ртутной бактерицидной лампы типа ДКБУ-7, электрической мощностью 7 Вт, мощность УФ-С излучения (254 нм) лампы составляла 1,2 Вт.

И в 3-й контрольной группе животных лечение ран проводили только при помощи антисептика путем ежедневного туалета и наложением на рану повязки с 0,1%-ым раствором хлоргексидина.

Все манипуляции выполняли с соблюдением требований «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986 г.), декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (Хельсинки, 2000 г.), а также

в соответствии с требованиями приказа №267 МЗ РФ от 19.06.2003 г. «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных».

Для контроля морфологической картины до начала лечения в каждой группе было выведено из эксперимента по 5 животных На 7-й, 14-й и 21-й дни в каждой группе выводили из эксперимента по 10 животных. Выводили животных при помощи передозировки внутримышечного наркоза (2%-ым раствором ксилазина и золептила 100). После эвтаназии иссекали мягкие ткани в области ран и фиксировали их в 10%-ом растворе формалина, с последующим приготовлением парафиновых блоков и гистологических препаратов по стандартной методике. Морфологическое исследование проведено на препаратах, окрашенных гематоксилином-эозином, толщиной среза 5 мкм.

Электронно-микроскопическое исследование выполнено на электронном микроскопе фирмы JEM 100 CX (JEOL, Япония) в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80кВ. Биологический материал для этого фиксировали в растворе 2,5%-го глутаральдегида, затем в растворе 1%-го оксида осмия и заключали в смесь аралдитовых смол. Полутонкие срезы (1–1,5 мкм) окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца.

Для качественного и количественного исследования гистологические препараты предварительно были отсканированы на цифровом сканере PANNORAMIC 250 Flash (3DHISTECH Ltd. Венгрия) с последующим изучением их при помощи программы Pannoramic Viewer 1.15.4 (3DHISTECH Ltd. Венгрия),

Статистическая обработка полученных результатов проведена при помощи программ Microsoft Office Excel и Statistica 10.0.1011 (StatSoft, Tibco, USA). Анализ проведен при помощи непараметрических методов статистики, так как предварительное исследование показало неравную дисперсию исследованных нами признаков. Данные описательной статистики представлены в виде медианы и интерквартильного размаха в 25% и 75%. Сравнение трех групп проводили методом Краскелла-Уоллиса, при $p<0,05$ признак считали статистически значимо различным в трех группах. Далее выполняли парное сравнение между группами с использованием критерия Манна-Уитни и поправки Бонферрони. Признак считали статистически значимо различным между двумя группами при $p<0.0167$. Предварительное сравнение групп в динамике выполнено при помощи критерия Фридмана для связанных признаков с расчетом коэффициента конкордантности Кендалла (KK). Признак считали статистически значимо различным при $p<0,05$. Далее проводили последовательное парное сравнение признака внутри групп по методу Вилкоксона с поправкой Бонферрони. Признак считали статистически значимо различным между двумя группами при $p<0.0167$.

Результаты

В ранах животных всех групп до начала лечения наблюдали нейтрофильную и лимфоцитарную инфильтрацию с участками кровоизлияния (рис. 1а). Встречающиеся в препаратах сосуды и капилляры паралитически расширены или заполнены эритроцитами. Эндотелий сосудов набухший. Присутствующие в ранах коллаген-

новые волокна повреждены и набухшие. В области дна раны, среди жировой ткани, отмечено большое количество тучных клеток, находящихся в разной степени дегрануляции (рис. 1б,с). В мышечной ткани видны очаги кровоизлияния, ткань отека и содержит поврежденные сосуды с набухшим эндотелием. Края раны окаймлены утолщенным эпидермисом, с признаками отека.

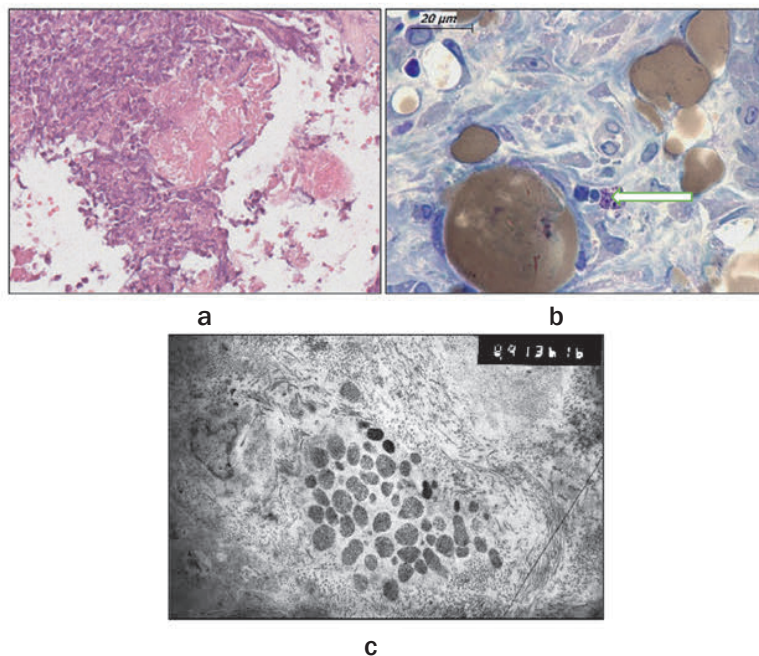


Рис. 1. Препараты ран животных до лечения: а – раневой дефект, некроз ткани, участки кровоизлияния; б – тучная клетка – стрелка; с – тучная клетка в состоянии дегрануляции; Увеличение: а – 200; б – 1000; с – электронограмма х8900. Окраска: а – гематоксилин-эозин; б – толуидиновый синий; с – уранил ацетат и цитрат свинца.

Fig. 1. Specimens of animal wounds before treatment: а – wound defect, tissue necrosis, areas of hemorrhage; б – mast cell – indicated by an arrow; с – mast cell in a state of degranulation. Magnification: а – 200x; б – 1000x; с – electron micrograph x8900. Staining: а – hematoxylin and eosin; б – toluidine blue; с – uranyl acetate and lead citrate.

Таблица 1

Количественный состав клеток в гистологических препаратах ран до начала лечения

Table 1

Quantitative composition of cells in histological wound specimens before treatment

Клеточный состав Cell composition	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3	p – между исследуемыми группами p – between groups
Нейтрофилы Neutrophils	316 (274;346)	303 (276;345)	314 (261;364)	p=0,88
Лимфоциты Lymphocytes	62 (59;68)	59 (57;66)	65 (60;68)	p=0,051
Макрофаги Macrophages	0	0	0	
Дегранулирующие базофилы Degranulating basophils	11 (10;12)	12 (11;13)	11 (10;13)	p=0,049
Базофилы Basophils	0	0	0	
Плазмоциты Plasmacells	1 (1;1)	1 (1;1)	1 (1;1)	p=0,47
Фибробласты Fibroblasts	0	0	0	
Сравнение клеточного состава внутри групп в динамике Comparison within groups over time	p(H/N)<0.0001, KK=1; p(L/L)<0.0001, KK=1; p(M/M)<0.0001, KK=1; p(ДБ/ДБ)<0.0001, KK=0,98; p(Б/Б)<0.0001, KK=1; p(П/П)<0.0001, KK=0,58; p(Ф/Ф)<0.0001, KK=0,98	p(H/N)<0.0001, KK=1; p(L/L)<0.0001, KK=0,9; p(M/M)<0.0001, KK=0,78; p(ДБ/ДБ)<0.0001, KK=1; p(Б/Б)<0.0001, KK=0,92; p(П/П)<0.0001, KK=0,92; p(Ф/Ф)<0.0001, KK=1	p(H/N)<0.0001, KK=1; p(L/L)<0.0001, KK=0,93; p(M/M)<0.0001, KK=0,93; p(ДБ/ДБ)<0.0001, KK=0,98; p(Б/Б)<0.0001, KK=0,93; p(П/П)<0.0001, KK=0,81; p(Ф/Ф)<0.0001, KK=1	

При статистическом анализе количественного состава клеток до начала лечения достоверной разницы между группами не выявлено (табл. 1).

К 7-му дню лечения в препаратах животных всех групп сохранялся отек. Отмечена тенденция к уменьшению и трансформации инфильтрата. В 1-й группе участки инфильтрации приобрели вид слоистой структуры, появились гранулы гемосидерина. Гранулы пигмента расположены свободно в межклеточном пространстве и макрофагах, окрашивая последние в коричневый цвет (рис. 2a,b). В других группах уменьшение инфильтрата было менее значительно. Так, у 2-й группы животных наблюдали инфильтрацию в виде розеток вокруг мелких сосудов. В препаратах ран животных 3-й группы отмечали тромбированные кровеносные сосуды, как мелкие, так и более крупные. Нейтрофилы в ране были с признаками нетоза. Во всех группах отмечали дегрануляцию тучных клеток (рис. 2c). В препаратах 1-й и 2-й групп животных появлялись молодые фибробласты, которые в 1-й группе животных выстраивались тяжами, ориентированными параллельно к поверхности раны

(рис. 2d), во 2-й группе животных такая ориентация клеток не определялась (рис. 2e).

Во всех группах к 7-ым суткам лечения количество нейтрофилов было существенно снижено по сравнению с предыдущим днем контроля (табл. 1, 2). Различия в количестве нейтрофилов в препаратах ран между группами (табл. 2) были статистически достоверны. Так, в 1-й группе их количество было достоверно меньше по сравнению со 2-й и 3-й группами ($p < 0,0001$ для обеих групп), а во 2-й группе количество нейтрофилов было достоверно меньше по сравнению с 3-й группой ($p < 0,0001$). Также в препаратах животных 1-й группы было снижено количество лимфоцитов по сравнению с предыдущим днем контроля и по сравнению с другими группами (табл. 1, 2). У животных всех групп в ранах появлялись макрофаги, которых было существенно больше в препаратах ран животных 1-й группы ($p < 0,0001$ по сравнению со 2-й и 3-й группами) и 2-й группы ($p < 0,0001$ по сравнению с 3-й группой). На 7-й день лечения ран в ответ на проводимую терапию в препаратах ран животных 1-й и 2-й групп было увеличено количество плазмочитов (табл. 1, 2; рис. 2f).

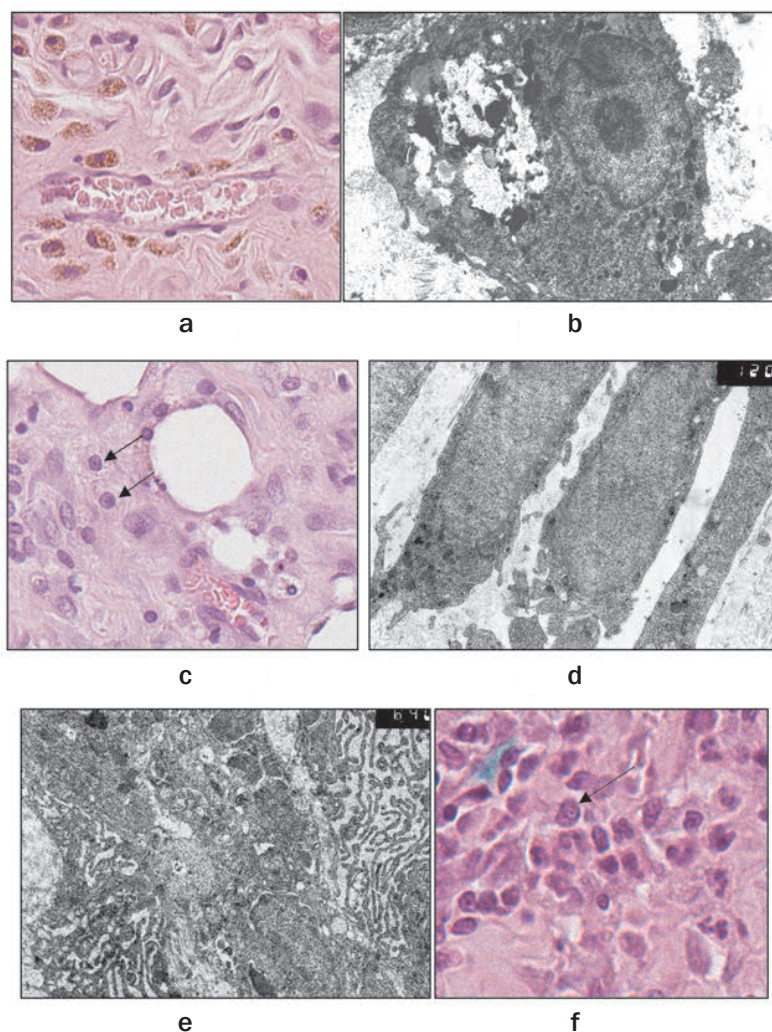


Рис. 2. Препараты ран животных на 7-й день лечения (a-d – 1-я группа; e-f – 2-я группа): а – в соединительной ткани гранулы гемосидерина коричневого цвета; б – функционально активный макрофаг, в центре клетки крупная фагосома с клеточным детритом; с – тучные клетки в состоянии полной дегрануляции; d – фибробласты ориентированные параллельно поверхности раны; е – функционально активные фибробласты без выраженной пространственной ориентации; f – в поле зрения плазмочит.
а, с, f увеличение: – 400, окраска – гематоксилин-эозин; б, d, е – электроннограммы, увеличение – 12000, окраска – уранил ацетат и цитрат свинца.
Fig. 2. Specimens of animal wounds on the 7th day of treatment (a-d: Group 1; e-f: Group 2): a – brown hemosiderin granules in connective tissue; b – functionally active macrophage. Large phagosome with cellular debris in the center; c – mast cells in a state of complete degranulation; d – fibroblasts aligned parallel to the wound surface; e – functionally active fibroblasts without distinct spatial orientation; f – plasma cell in the field of view.
Magnification: a, c, f – staining – hematoxylin and eosin, 400x; b, d, e – electron micrographs, staining – uranyl acetate and lead citrate, magnification – 12000x.

Таблица 2

Количественный состав клеток в гистологических препаратах ран на 7 день лечения

Table 2

Quantitative composition of cells in histological wound specimens on the 7th day of treatment

Клеточный состав Cell composition	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3	p – между исследуемыми группами p – between groups
Нейтрофилы Neutrophils	64 (59;67)	82 (77;86)	176,5 (167;188)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Лимфоциты Lymphocytes	13 (12;14)	60 (53;67)	73 (72;74)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Макрофаги Macrophages	34 (30;36)	17 (16;18)	4 (2;6)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Дегранулирующие базофилы Degranulating basophils	1 (1;1)	4 (3;5)	7 (6;8)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Базофилы Basophils	6 (5;8)	1 (1;1)	0	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Плазмоциты Plasma cells	3,5 (2;6)	2 (2;2)	1 (1;1)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Фибробласты Fibroblasts	13,5 (12;17)	2,5 (2;4)	0	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
p – внутри каждой исследуемой группы между 7-ым днем контроля и днем до начала лечения p – within each group between Day 7 and pre-treatment	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДБ)<0.0001 p(Б/Б)<0.0001 p(П/П)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)=0,62 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДБ)<0.0001 p(Б/Б)<0.0001 p(П/П)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДБ)<0.0001 p(П/П)=0,69	

Морфологическое исследование препаратов ран на 14-е сутки лечения показало, что в препаратах 1-й группы животных воспалительная инфильтрация тканей была минимальна. Фибробласты, ориентированные параллельно поверхности раны, находились в состоянии высокой функциональной активности (что подтверждается ультраструктурным анализом), синтезировали белки, в том числе коллаген (рис. 3а). Происходил рост новых сосудов к центру раны и перпендикулярно поверхности раны (рис. 3б). Вдоль сосудов группировались фибробласты (рис. 3с). Тучные клетки единичные, в состоянии частичной дегрануляции. (рис. 3д,е). Во 2-й группе инфильтрация уменьшилась, в некоторых препаратах заметно образование новых капилляров. В 3-й группе все еще сохранялся струп, под струпом инфильтрат и отек, были видны нейтрофилы и макрофаги (рис. 3ф). На отдельных участках инфильтрация распространялась до мышечной и

жировой ткани. Гистологических признаков ремоделирования соединительной ткани не было.

Количественный анализ показал, что нейтрофилов и лимфоцитов на 14-е сутки лечения становиться существенно меньше, чем на 7-е сутки (табл. 2, 3). Динамика количества макрофагов в каждой группе была разная. Так в 1-й группе их количество по сравнению с 7-ым днем лечения и по сравнению с другими группами было статистически значимо меньше ($p<0,0001$ для всех указанных показаний). У 2-й группе животных количество макрофагов сохранялось на одном уровне по сравнению с предыдущим днем контроля ($p=0,89$), но при этом было существенно меньше, чем в 3-й группе ($p<0,0001$). А в препаратах ран 3-й группы показатели макрофагов увеличились по сравнению с 7-ым днем лечения, что указывало на более позднюю реакцию организма на проводимое лечение. В то же время во всех группах было выявлено существенное

уменьшение количества дегранулирующих базофилов ($p < 0,0001$ для всех групп), при этом у 1-й и 2-й групп их содержание было повышено ($p < 0,0001$). Популяция

тучных клеток 1-ой и 2-й групп восстанавливали свою функциональную активность. Со стороны соединительнотканного компонента был отмечен рост содержания

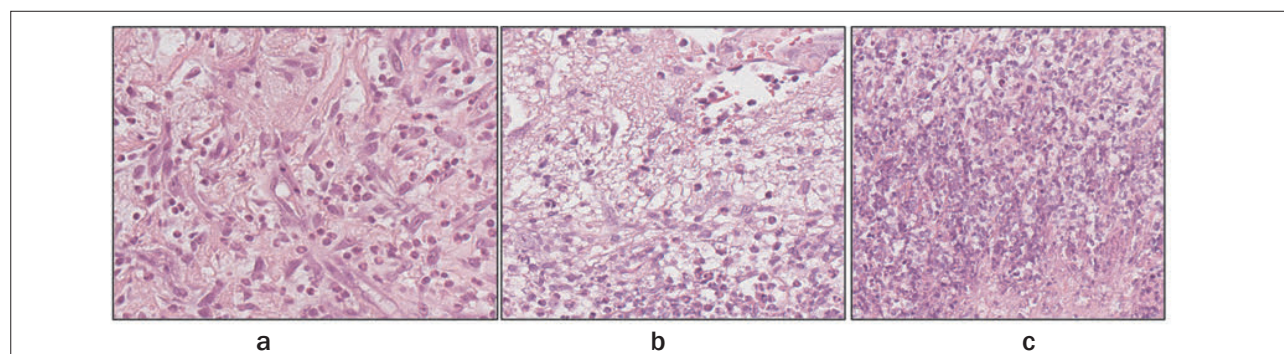
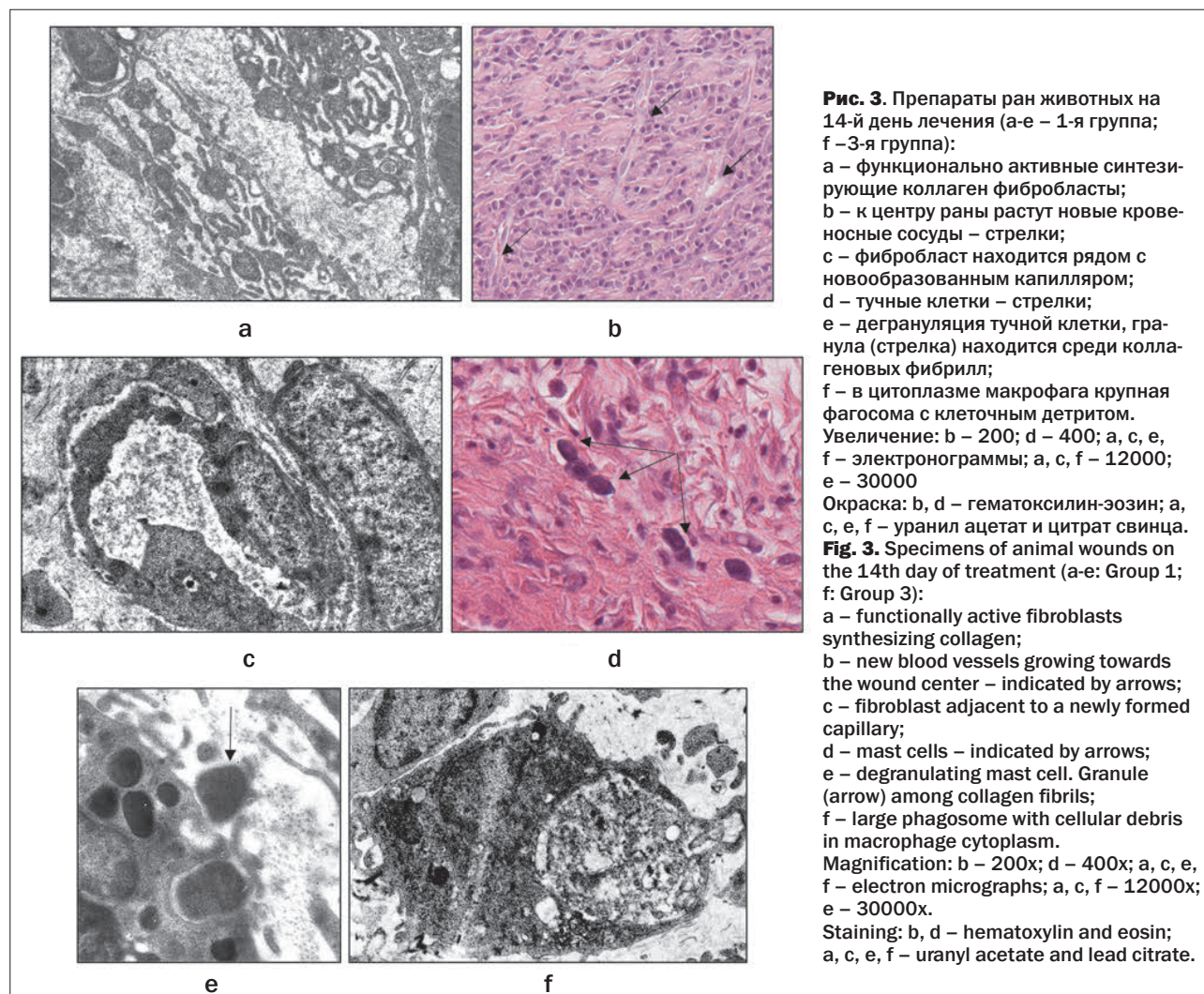


Таблица 3

Количественный состав клеток в гистологических препаратах ран на 14-й день лечения

Table 3

Quantitative composition of cells in histological wound specimens on the 14th day of treatment

Клеточный состав Cell composition	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3	p – между исследуемыми группами p – between groups
Нейтрофилы Neutrophils	10,5 (7;14)	27 (25;34)	56 (49;61)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)<0,0001
Лимфоциты Lymphocytes	2 (2;2)	27 (25;29)	55 (51;60)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)<0,0001
Макрофаги Macrophages	6 (5;7)	17 (14;21)	33 (25;42)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)<0,0001
Дегранулирующие базофилы Degranulating basophils	0	1 (1;1)	2 (2;2)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)<0,0001
Базофилы Basophils	13 (12;15)	6 (5;8)	1 (1;1)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)<0,0001
Плазмоциты Plasmacells	2 (2;2)	1 (1;1)	1 (1;1)	p<0,0001 p(1-2)<0,0001 p(1-3)<0,0001 p(2-3)=0,7
Фибробласты Fibroblasts	45 (33;52)	17 (15;19)	5 (4;6)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
p – внутри каждой исследуемой группы между 14-ым и 7-ым днями p – within each group between Day 14 and Day 7	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДВ)<0.0001 p(Б/В)<0.0001 p(П/Р)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)=0,89 p(ДБ/ДВ)<0.0001 p(Б/В)<0.0001 p(П/Р)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДВ)<0.0001 p(Б/В)<0.0001 p(П/Р)=0,53 p(Ф/Ф)<0.0001	

фибробластов у 1-й и 2-й групп (табл. 2, 3). В препаратах ран 3-й группы появлялись единичные базофилы и фибробласты.

К 21-му дню лечения имела место значительная динамика морфологических признаков. Так при исследовании препаратов ран животных 1-й группы, у которых в лечении было применено высокоинтенсивное импульсное широкополосное облучение, наблюдалось ремоделирование соединительной ткани в пользу полного восстановления структуры. Во 2-й группе животных, у которых в лечении ран использовали традиционное ультрафиолетовое облучение, сохранялась макрофагальная реакция. В соединительной ткани под струпом присутствуют капилляры, хотя и в меньшем количестве, чем в 1-й группе. В препаратах ран животных 1-й и 2-й групп в соединительной ткани большое количество тучных клеток в неактив-

ном состоянии (табл. 4). В 3-й группе сохраняется примесь нейтрофилов (табл. 4), тромбоз мелких сосудов. Сохраняется отек, который выражен в соединительной и жировой ткани.

Обсуждение

Заживление ран представляет собой сложный биологический процесс с последовательно перекрывающимися физиологическими и морфологическими фазами. Для восстановления барьерной функции поврежденных кожных покровов необходима координация клеточных и молекулярных процессов. В начале раневого процесса в первую фазу воспаления клеточные элементы, такие как нейтрофилы и макрофаги, мигрируют в рану, мобилизуя местную и системную защиту. В следующей фазе, пролиферации, клетки соединительной ткани, фибробласты и кератиноциты,

Таблица 4

Количественный состав клеток в гистологических препаратах ран на 21-й день лечения

Table 4

Quantitative composition of cells in histological wound specimens on the 21st day of treatment

Клеточный состав Cell composition	1-я группа Group 1	2-я группа Group 2	3-я группа Group 3	p – между исследуемыми группами p – between groups
Нейтрофилы Neutrophils	0	6,5 (5;9)	23 (19;26)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Лимфоциты Lymphocytes	0	3 (2;4)	14 (12;18)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Макрофаги Macrophages	2 (2;2)	10 (8;13)	25 (23;27)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Дегранулирующие базофилы Degranulating basophils	0	0	0	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Базофилы Basophils	19 (18;20)	9 (7;11)	2 (2;2)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
Плазмоциты Plasmacells	2 (2;2)	0	0	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001
Фибробласты Fibroblasts	66 (59;77)	34 (27;40)	14 (12;16)	p<0,0001 p(1-2) <0,0001 p(1-3) <0,0001 p(2-3) <0,0001
p – внутри каждой группы между 21-ым и 14-ым днем p – within each group between Day 21 and Day 14	p(H/N)<0.0001; p(L/L)<0.0001; p(M/M)<0.0001; p(B/B)<0.0001; p(P/P)=1 p(F/F)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДБ)<0.0001 p(Б/Б)<0.0002 p(П/П)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	p(H/N)<0.0001 p(L/L)<0.0001 p(M/M)<0.0001 p(ДБ/ДБ)<0.0001 p(Б/Б)<0.0001 p(П/П)<0.0001 p(Ф/Ф)<0.0001	

начинают активно пролиферировать, запуская процесс ремоделирования соединительной ткани. Третьей фазой раневого процесса является фаза – регенерации или эпителизации, когда фибробласты начинают синтезировать коллаген, начинается организация нового матрикса [8].

Для анализа и оценки заживления ран применяют различные методы, в том числе планиметрию и морфологическое исследование. Метод планиметрии позволяет клинически оценить видимую характеристику раны и из-за наличия струпа часто не коррелирует с показателями заживления, визуализируемыми морфологией, что делает морфологическое исследование «золотым стандартом» оценки заживления ран [9].

В литературе имеются данные по эффективности применения фототерапии в лечении ран, в том числе инфицированных, но в основном исследования

касаются лазеро- или фотодинамической терапии, и авторы указывают на клиническую и бактерицидную и морфологическую эффективность их применения [10, 11, 12]. Работ, посвященных изучению эффективности применения ультрафиолетового облучения при лечении инфицированных ран, небольшое количество, при этом встречающиеся исследования показывают только бактерицидную эффективность [13, 14].

K. Narita и соавт. в эксперименте на мышах, смоделировав инфицированную *St. Aureus* (MRSA) рану, облучали ее двумя типами ламп с излучением в диапазоне 222 нм и 254 нм. Авторами выполняли бактериологическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследование. При морфологическом исследовании авторами выявлено снижение воспалительной реакции при ультрафиолетовом облучении инфицированных ран в диапазоне 222 нм. В исследовании гистоло-

гический анализ проведен только на 5-й и 8-й дни, и дана оценка только нейтрофильной инфильтрации без статистической оценки полной морфологической картины [15].

V.V. Bagrov с соавт. показали бактерицидную, клиническую и морфологическую эффективность антибактериальной терапии в комбинации с высокоинтенсивным оптическим облучением инфицированных ран по сравнению с традиционным применением мази левомиколь. Гистологический анализ показал более ранний переход раневого процесса (14-е сутки) в фазу грануляции у животных, на раны которых воздействовали высокоинтенсивным оптическим облучением, по сравнению с ранами животных контрольной группы [16].

Таким образом, литературные данные о применении ультрафиолетового облучения инфицированных ран ограничены, и представлены в основном описанием бактерицидной эффективности. В имеющихся исследованиях морфологические признаки регенерации тканей представлены только на начальных стадиях раневого процесса, на стадиях воспаления и пролиферации, и нет данных о полной морфологической картине, происходящей в ране в ходе лечения с применением ультрафиолетового облучения вплоть до завершения регенеративных процессов.

В нашем исследовании, представлен качественный и количественный анализ морфологической картины при использовании высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения, традиционного ультрафиолетового облучения и классического местного применения антисептика.

Проведенное нами экспериментальное исследование лечения инфицированных ран показало, что до начала лечения морфологическая картина ран соответствовала фазе острого воспаления. На 7-й день в 1-й группе морфологическая картина соответствовала фазе пролиферации. Во 2-й и 3-й группах отек и инфильтрация сохранялись. К 14-му дню в 1-й группе наблюдали признаки формирования грануляционной ткани и переход ран в стадию регенерации. Во 2-й группе уменьшалась инфильтрация, появлялись новые капилляры, увеличивалось количество фибробластов. В 3-й группе воспалительные явления сохранялись. К 21-му дню в препаратах ран 1-й группы признаки воспаления отсутствовали, наблюдалось ремоделирование соединительной ткани с признаками образования нежного рубца. В препаратах 2-й группы признаки инфильтрации были минимальны, наблюдались явления ремоделирования соединительной ткани, в которой присутствовали новые капилляры. В препаратах ран 3-й группы животных инфильтрация была уменьшена, новые сосуды образовывались с замедлением.

Заключение

Морфологическое исследование показало, что использование высокоинтенсивного импульсного широкополосного облучения инфицированных ран в отличие от традиционного ультрафиолетового облучения и лечения ран антисептиками в более ранние сроки купирует воспалительную реакцию тканей, активизирует местную иммунную реакцию и ускоряет процессы ремоделирования соединительной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

- Alcolea J.M., Hernández E., Martínez-Carpio P.A., et al. Treatment of Chronic Lower Extremity Ulcers with A New Er: Yag Laser Technology // *Laser Ther.* – 2017. – Vol. 26(3). – P. 211-222. <https://doi.org/10.5978/islsm.17-OR-17>;
- Aleksandrowicz H., Owczarczyk-Saczonek A., Placek W. Venous Leg Ulcers: Advanced Therapies and New Technologies // *Biomedicines.* – 2021. – Vol. 9(11). – P. 1569. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111569>
- Gupta A., Avci P., Dai T., et al. Ultraviolet Radiation in Wound Care: Sterilization and Stimulation // *Adv Wound Care (New Rochelle).* – 2013. – Vol. 2(8). – P. 422-437. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0366>;
- Wang D., Kuzma M.L., Tan X., et al. Phototherapy and optical waveguides for the treatment of infection // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2021. – Vol. 179. – P. 114036. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114036>;
- Szigeti R., Kellermayer R. Tying the past to the present: time tested knowledge with state-of-the-art technology in the fight against emerging and drug resistant microbes // *Ther Adv Infect Dis.* – 2021. – Vol. 8. – P. 2049936121989552. <https://doi.org/10.1177/2049936121989552>
- Архипов В.П., Багров В.В., Бяловский Ю.Ю. и др. Организация доклинических исследований бактерицидного и ранозаживляющего действия импульсного фототерапевтического аппарата «Заря» // *Проблемы социальной гигиены, здравоохране-*

REFERENCES

- Alcolea J.M., Hernández E., Martínez-Carpio P.A., et al. Treatment of Chronic Lower Extremity Ulcers with A New Er: Yag Laser Technology. *Laser Ther.* 2017, vol. 26(3), pp. 211-222. <https://doi.org/10.5978/islsm.17-OR-17>;
- Aleksandrowicz H., Owczarczyk-Saczonek A., Placek W. Venous Leg Ulcers: Advanced Therapies and New Technologies. *Biomedicines*, 2021, vol. 9(11), pp. 1569. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111569>
- Gupta A., Avci P., Dai T., et al. Ultraviolet Radiation in Wound Care: Sterilization and Stimulation. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2013, vol. 2(8), pp. 422-437. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0366>;
- Wang D., Kuzma M.L., Tan X., et al. Phototherapy and optical waveguides for the treatment of infection. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021, vol. 179, pp. 114036. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114036>;
- Szigeti R., Kellermayer R. Tying the past to the present: time tested knowledge with state-of-the-art technology in the fight against emerging and drug resistant microbes. *Ther Adv Infect Dis.* 2021, vol. 8, pp. 2049936121989552. <https://doi.org/10.1177/2049936121989552>
- Arkhipov V.P., Bagrov V.V., Byalovsky Yu.Yu., et al. Organization of preclinical studies of the bactericidal and wound healing effects of the pulsed phototherapy apparatus «Zarya». *Problems of social hygiene, healthcare and the history of medicine,*

- ния и истории медицины. – 2021. – Т. 29, № 5. – С. 1156-1162. <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-5-1156-1162>.
7. Давыдов А.И., Липатов Д.В., Камруков А.С. и др. Использование импульсного высокоинтенсивного оптического облучения и экзогенного монооксида азота в комплексном лечении больных гнойным воспалением придатков матки // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 14-17.
8. Rhea L., Dunnwald M. Murine Excisional Wound Healing Model and Histological Morphometric Wound Analysis // *J Vis Exp*. – 2020. – Vol. 162. – P. 10.3791/61616. <https://doi.org/10.3791/61616>
9. Ansell D.M., Campbell L., Thomason H.A., et al. A statistical analysis of murine incisional and excisional acute wound models // *Wound Repair Regen*. – 2014. – Vol. 22(2). – P. 281-287. <https://doi.org/10.1111/wrr.12148>
10. Чепурная Ю.Л., Мелконян Г.Г., Гульмурадова Н.Т., Сорокин А.А. Влияние фотодинамической терапии на динамику раневого процесса у пациентов с гнойными заболеваниями пальцев и кисти // *Biomedical Photonics*. – 2021. – Vol. 10(2). – P. 4-17. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-2-4-17>
11. Soltan H.H., Afifi A., Mahmoud A., Refaat M., Al Balah O.F. Effects of silver nanoparticle and low-level laser on the immune response and healing of albino mice skin wounds // *Biomedical Photonics*. – 2024. – Vol. 13(1). – P. 16-27.
12. Зайцев А. Е., Асанов О. Н., Чекмарёва И. А. Анализ эффективности эрбиевого лазера при лечении трофических гнойных ран в эксперименте // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2023. – Т. 8, № 4. – С. 394-397. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18093>
13. Dai T., Kharkwal G.B., Zhao J., et al. Ultraviolet-C light for treatment of *Candida albicans* burn infection in mice // *Photochem Photobiol*. – 2011. – Vol. 87(2). – P. 342-349. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00886.x>
14. Dai T., Murray C.K., Vrahas M.S., Baer D.G., Tegos G.P., Hamblin M.R. Ultraviolet C light for *Acinetobacter baumannii* wound infections in mice: potential use for battlefield wound decontamination? // *J Trauma Acute Care Surg*. – 2012. – Vol. 73(3). – P. 661-667. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e31825c149c>
15. Narita K., Asano K., Morimoto Y., et al. Disinfection and healing effects of 222-nm UVC light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mouse wounds // *J Photochem Photobiol B*. – 2018. – Vol. 178. – P. 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.030>
16. Bagrov V.V., Bukhtiyarov I.V., Volodin L.Y. et al. Preclinical Studies of the Antimicrobial and Wound-Healing Effects of the High-Intensity Optical Irradiation "Zarnitsa-A" Apparatus // *Applied Sciences (Switzerland)*. – 2023. – Vol. 13(19). – P. 10794. <https://doi.org/10.3390/app131910794>.
7. Davydov A.I., Lipatov D.V., Kamrukov A.S., et al. The use of pulsed high-intensity optical irradiation and exogenous nitrogen monoxide in the complex treatment of patients with purulent inflammation of the uterine appendages. *Issues of gynecology, obstetrics and perinatology*, 2007, vol. 6 (1), pp. 14-17.
8. Rhea L., Dunnwald M. Murine Excisional Wound Healing Model and Histological Morphometric Wound Analysis. *J Vis Exp*, 2020, vol. 162, pp. 10.3791/61616. <https://doi.org/10.3791/61616>
9. Ansell D.M., Campbell L., Thomason H.A., et al. A statistical analysis of murine incisional and excisional acute wound models. *Wound Repair Regen*, 2014, vol. 22(2), pp. 281-287. <https://doi.org/10.1111/wrr.12148>
10. Chepurnaya Y.L., Melkonyan G.G., Gulmuradova N.T., Sorokin A.A. The effect of photodynamic therapy on the dynamics of the wound process in patients with purulent diseases of the fingers and hand. *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(2), pp. 4-17. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-2-4-17>
11. Soltan H.H., Afifi A., Mahmoud A., Refaat M., Al Balah O.F. Effects of silver nanoparticle and low-level laser on the immune response and healing of albino mice skin wounds. *Biomedical Photonics*, 2024, vol. 13(1), pp. 16-27.
12. Zaitsev A. E., Asanov O. N., Chekmareva I. A. Analysis of the effectiveness of an erbium laser in the treatment of trophic purulent wounds in an experiment. *Medical Bulletin of the North Caucasus*, 2023, vol.8(4), pp. 394-397. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18093>
13. Dai T., Kharkwal G.B., Zhao J., et al. Ultraviolet-C light for treatment of *Candida albicans* burn infection in mice. *Photochem Photobiol*, 2011, vol. 87(2), pp. 342-349. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00886.x>
14. Dai T., Murray C.K., Vrahas M.S., Baer D.G., Tegos G.P., Hamblin M.R. Ultraviolet C light for *Acinetobacter baumannii* wound infections in mice: potential use for battlefield wound decontamination? *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, vol. 73(3), pp. 661-667. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e31825c149c>
15. Narita K., Asano K., Morimoto Y., et al. Disinfection and healing effects of 222-nm UVC light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mouse wounds. *J Photochem Photobiol B*, 2018, vol. 178, pp. 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.030>
16. Bagrov V.V., Bukhtiyarov I.V., Volodin L.Y. et al. Preclinical Studies of the Antimicrobial and Wound-Healing Effects of the High-Intensity Optical Irradiation "Zarnitsa-A" Apparatus. *Applied Sciences (Switzerland)*, 2023, vol. 13(19), pp. 10794. <https://doi.org/10.3390/app131910794>.