

Применение светодиодного излучения для лечения термических ожогов

*Е.Е. Лаврушина, к.б.н., Ульяновская ГСХА;
Г.М. Топурия, д.б.н., Оренбургский ГАУ*

Поиск новых методов стимулирующего воздействия на регенераторные процессы при раневых и ожоговых травмах в последние годы приобретает особую актуальность. Прежде всего, это связано с возрастанием контингента травмированных больных в результате участвовавших широкомасштабных аварий и катастроф, криминальных происшествий и др.

Недостаточная эффективность традиционных медикаментозных методов лечения ожоговых ран связана, в первую очередь, с появлением в последнее время устойчивых форм микроорганизмов, развитием аллергических реакций, снижением общей сопротивляемости организма. Кроме того, многие фармакологические препараты не обладают избирательностью действия и часто оказывают побочные эффекты. Установлено также, что многие препараты полностью не метаболизируются в организме больных и, попадая в сточные воды, сохраняют свою биологическую эффективность, оказывая негативное действие на экологию. Недостатки лекарственной терапии диктуют необходимость поиска новых, в том числе физических, методов лечения, среди которых перспективными являются применение низкоинтенсивных лазеров и матричных систем на основе светодиодов [1, 2, 3, 4].

Целью наших исследований явилась разработка методики и изучение влияния светодиодного излучения красного спектра света (СДИКСС) на раневой процесс. Экспериментальные исследования проводились на половозрелых белых мышах массой 20–25 г.

Для нанесения ожоговой травмы применялся термокоагулятор. Подаваемое на него напряжение регулировали с помощью трансформатора. Время контакта обжигающей поверхности составило 2 сек. Термическое воздействие приводило к поражению кожи, сходному с ожогом IIIб 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.

Животные были разделены на 3 группы: 1 интактную группу составляли животные, не подвергавшиеся никаким экспериментальным воздействиям; 2 контрольную группу — животные, которым имитировалось облучение ожоговой раны при выключенном источнике СДИКСС (имитационный контроль); 3 — животные, у ко-

торых область раны подвергалась облучению красным светом.

Воздействие светом осуществлялось ежедневно с 8⁰⁰ до 10⁰⁰ в течение 28 дней.

Излучающее устройство (диоды) представляют собой арсенид-галлий-алюминевые кристаллы красного спектра свечения с длиной волны 0,620–0,680 мкм, помещённые 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.

Плотность мощности светодиодного излучения составляла 1,41 мВт/см², плотность энергии — 169,8 мДж/см².

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 (с 10⁰⁰ до 11⁰⁰) передозировкой эфира. В каждый временной период исследовались 5 животных из каждой опытной группы.

Гистологические и морфометрические исследования проводили по общепринятым методикам.

Морфофункциональное состояние ожоговых ран, динамика их заживления в опытной группе имели определенные различия с контрольными показателями во все рассматриваемые нами сроки эксперимента. Так, уже после трёх экспозиций света в раневых регенератах наблюдалось увеличение содержания клеточных элементов фибробластического ряда. Основную массу среди них представляли молодые фибробласты. Содержание тучных клеток значительно превышало контрольные значения, в популяции преобладали крупные формы, с густо заполненной гранулами цитоплазмой и хорошо очерченными ядрами, иногда замаскированными гранулами. На фоне активной клеточной инфильтрации (преимущественно нейтрофильной) непосредственно под участками некротизированных тканей, по периферии и в области дна раны встречались новообразованные капилляры с элементами грануляционной ткани. Относительная площадь молодой соединительной ткани составляла 20,08%, что в среднем 4,25 раза превышало аналогичные показатели в контрольной группе (см. табл. 1). Следует также отметить, что уже на третьи сутки эксперимента коэффициент регенерации эпителия у животных 3-й группы достоверно превышал показатели контрольной группы ($P < 0,05$) (табл. 3).

1. Результаты морфометрического исследования процессов регенерации ожоговых ран в различные сроки наблюдений

Время набл., сутки	Площадь грануляционной ткани, %	Площадь некроза, %	Площадь эпителиального регенерата, %	Коэффициент регенерации эпителия, ед.
3-и	$4,72 \pm 0,520$ $20,80 \pm 0,939^*$	$94,01 \pm 0,627$ $76,16 \pm 0,745^*$	$1,27 \pm 0,120$ $3,76 \pm 0,313$	$0,09 \pm 0,016$ $0,21 \pm 0,011^*$
5-е	$10,33 \pm 2,767$ $21,77 \pm 1,592^*$	$85,04 \pm 2,298$ $67,29 \pm 1,599^*$	$4,63 \pm 1,061$ $10,94 \pm 0,987^*$	$0,28 \pm 0,014$ $0,33 \pm 0,011^*$
9-е	$30,74 \pm 4,186$ $35,73 \pm 2,535^*$	$58,33 \pm 4,166$ $51,65 \pm 2,334^*$	$10,93 \pm 1,353$ $12,62 \pm 1,614^*$	$0,42 \pm 0,007$ $0,65 \pm 0,005^*$
11-е	$59,66 \pm 6,412$ $49,87 \pm 1,187$	$25,52 \pm 5,634$ $32,00 \pm 1,804$	$14,81 \pm 1,282$ $18,13 \pm 1,287^*$	$0,48 \pm 0,016$ $0,91 \pm 0,015^*$
15-е	$76,33 \pm 2,339$ $71,46 \pm 0,818$	$10,09 \pm 1,403$ $11,15 \pm 0,444$	$13,58 \pm 1,837$ $17,38 \pm 0,875^*$	$0,55 \pm 0,004$ $0,98 \pm 0,004^*$
21-е	$80,19 \pm 4,397$ $88,37 \pm 1,110$	$8,52 \pm 2,314$ 0,00	$11,29 \pm 2,866$ $11,62 \pm 1,109^*$	$0,89 \pm 0,018$ $1,00 \pm 0,000$
28-е	$89,35 \pm 1,837$ $88,56 \pm 1,438^*$	0,00 0,00	$10,65 \pm 1,837$ $11,44 \pm 1,438^*$	$1,00 \pm 0,000$ $1,00 \pm 0,000$

Примечание: в числителе — показатели животных контрольной группы, в знаменателе — животных, подвергавшихся светотерапии; * достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ($P < 0,05$).

На пятые сутки эксперимента в зоне раневого дефекта наблюдались незначительный прирост грануляционной ткани и значительная активация процессов эпителизации. Эпителиальные тяжи, подрастающие под струп, покрывали 30–40% раневой поверхности. Площадь эпителиального регенерата составляла $10,94 \pm 0,987\%$ от общей площади раны, более чем в два раза превышая показатели контрольных животных.

В последующие сроки наблюдений (9–11 суток) в стремительно увеличивающейся толще грануляционной ткани отмечалось нарастание числа макрофагов, лимфоцитов и фибробластов. Среди последних чаще, чем в контрольной группе, встречались веретёновидные клетки, с характерным для фиброцитов строением. К 11-м суткам эксперимента поверхность раневого дефекта в среднем на 91% была покрыта пластом истонченной эпителиальной ткани (в сравнении, у контрольных животных этот показатель не превышал 48%). По краям зоны некроза наряду с формирующимися грануляциями отмечалось полосовидное отторжение поверхностных слоёв 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 слоёв 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 волосные фолликулы. Вновь образован-

ные сосуды, отличающиеся более упорядоченным расположением, постепенно формировали слой сосудистых петель, типичный для нормально организованной грануляционной ткани.

Результаты морфологического исследования, проведённого в те же сроки в контрольной группе, свидетельствовали о слабopоложительной динамике воспалительного процесса, характеризующейся экссудативной (фиброзно-гношной) реакцией.

При микроскопическом исследовании препаратов, полученных от животных после 15 сеансов фототерапии, было выявлено, что подлежащая под ожоговым струпом некротизированная ткань отграничивалась от нижележащих тканей демаркационным валом, с преобладанием в нем лимфоидно-плазмoцитарных 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 (табл. 2).

В этот период у 40% животных 3-й группы наблюдалась полная эпителизация раневого дефекта, у остальных коэффициент регенерации приближался к единице. В контрольной группе аналогичные изменения были зафиксированы лишь к исходу 4-й недели эксперимента, в то время как в 3-й группе в этот период наблюдалось 100%-е восстановление эпителиального слоя. Следует также отметить, что на 15-е сутки экспозиции СДИКСС в данной группе коэффициент регенерации в 1,8 раза превышал показате-

2. Коэффициент дегрануляции тучных клеток

Сроки набл., сутки	Группы животных		
	1-я (интактная)	2-я (контрольная)	3-я (облучение раны СДИКСС)
3-и	0,62±0,010	0,85±0,027*	0,80±0,012 ⁰
5-е		0,84±0,025*	0,86±0,028 ⁰
9-е		0,77±0,012*	0,90±0,009 ⁰
11-е		0,73±0,014*	0,79±0,015 ⁰
15-е		0,70±0,015*	0,83±0,013 ⁰
21-е		0,67±0,021*	0,75±0,019 ⁰
28-е		0,64±0,032*	0,62±0,016 ⁰

Примечание: *достоверные отличия от показателей интактных животных ($P<0,05$);

⁰достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ($P<0,05$).

3. Коэффициент регенерации эпителия в зоне раневого дефекта

Сроки набл., сутки	Группы животных	
	2-я (контрольная)	3-я (облучение раны СДИКСС)
3-и	0,09±0,016	0,21±0,011 ⁰
5-е	0,28±0,014	0,33±0,011 ⁰
9-е	0,42±0,007	0,65±0,005 ⁰
11-е	0,48±0,016	0,91±0,015 ⁰
15-е	0,55±0,004	0,98±0,004 ⁰
21-е	0,89±0,018	1,00±0,00 ⁰
28-е	1,00±0,000	1,00±0,00 ⁰

Примечание: ⁰достоверные отличия от показателей животных контрольной группы ($P<0,05$)

тели контрольных животных, составляя в среднем $0,98\pm0,004$ ед. (табл. 3).

Принимая во внимание филогенетически обусловленную тесную связь процесса эпителизации с ростом и дифференцировкой грануляционной ткани, можно предположить, что светотерапия в указанном режиме, опосредованная макрофагами и (или) фибробластами, являющимися источником эпидермального фактора роста, стала причиной сокращения сроков эпителизации ран у мышей 3-й группы. Так, уже на 21-е сутки проведения фототерапевтических мероприятий у 100% животных раны, полностью очищенные от некротических масс, были покрыты истончённым слоем многослойного плоского эпителия, тогда как в контрольной группе аналогичные изменения наблюдались лишь к моменту окончания эксперимента (табл. 1).

К 28-м суткам у большинства животных 3-й группы на месте предсуществующего повреждения обнаруживались ровные, трудноразличимые рубцы. При гистологическом исследовании препаратов было выявлено следующее: эпителий ран был представлен несколькими слоями слабо дифференцированных клеток; молодая соединительная ткань приобретала вид нормальной дермы с менее плотным расположением фибробластов и более упорядоченным расположением коллагеновых и эластических волокон, отмечалось

значительное увеличение числа хорошо сформированных волосяных фолликулов.

В ранах животных контрольной группы в этот период выявлялись признаки незавершенности воспалительного процесса: в толще дермы сохранялась очаговая лимфоидно-плазмоцитарная инфильтрация, на некоторых препаратах обнаруживались скопления нейтрофилов. Волокнистые структуры имели более рыхлое расположение в сравнении с опытной группой, что свидетельствовало о незрелости грануляционной ткани. В глубоких слоях дермы выявлялись признаки рубцевания.

Анализ данных, полученных при исследовании реакции тканевых базофилов на воздействие СДИКСС, показал, что, не изменяя общих закономерностей при воспалительном процессе, квантовая энергия 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 (табл. 2). Учитывая активное участие тучных клеток в процессах роста и созревания грануляционной ткани, этот факт можно отнести к признакам положительной динамики заживления ожоговых ран в условиях воздействия СДИКСС.

Таким образом, биологический эффект светодиодного излучения, по-видимому, обусловлен его способностью индуцировать активность эпителиальных и соединительнотканых элементов, что, в конечном итоге, приводило к значительному сокращению продолжительности всех стадий раневого процесса, сопровождающегося формированием полноценной соединительной ткани без признаков рубцевания.

Литература

1. Аббаев Ю.К. Раневое заживление в хирургии. Минск: БГМУ, 2003. 185 с.
2. Атясов Л.И., Куприянов В.А. Лечение ожоговых ран. Саранск: Изд-во Мордовского гос. ун-та, 1978. 104 с.
3. Байбеков И.М., Насыров Ф.Г. Морфологические аспекты лазерного воздействия. Ташкент: Изд-во Ибн-Сины, 1996. 208 с.
4. Бурликов В.К., Крочик Г.М. Биологическое действие лазерного излучения. Кишинев, 1989. 103 с.