

Тахавиев Ростислав Винерович

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ
СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ ЗЕЛЕНОГО И ИНФРАКРАСНОГО СПЕКТРА**

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат

диссертация на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Брюхин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Суворова Галина Николаевна – доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии и эмбриологии, заведующий.

Лебедева Анна Ивановна – доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Всероссийский центр глазной и пластической хирургии), научно-исследовательский отдел – отдел морфологии, заведующий отделом.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2026 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.068.03 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (пр. Ленина, 107, Томск, Томская обл., 634050) и на сайте (<https://ssmu.ru/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, г. Томск, Московский тракт, 2).

Автореферат разослан _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Мустафина Лилия Рамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Репаративная регенерация скелетной мышечной ткани является интенсивно изучаемой проблемой регенеративной медицины (Клишов А.А., 1984; Данилов Р.К., 2008), что подтверждается многочисленными современными исследованиями (Liu J., Saul D., Böker K.O. et al., 2018; Sikorska M., Dutkiewicz M., Zegrocka-Stendel O. et al., 2021). Регенерация тканей протекает наиболее выражено в эмбриональном периоде, а в процессе взросления потенции к регенерации снижаются и достигают своего минимума к старости (de Brito A., Neves Alves A., Guimaraes Ribeiro B. et al., 2018). В настоящее время изучение репарации скелетных мышц осуществляется на уровне клеток камбиального резерва - миосателлитов с использованием современных методов исследования (Shang M., Cappellesso F., Amorim R. et al., 2020), в том числе иммуногистохимических методов и методов культивирования этих клеток (Park S., Gagliardi M., Swennen G. et al., 2022; Oh S., Park S., Park Y. et al., 2023).

Репарация скелетной мышечной ткани начинается с местных изменений, обусловленных воспалительной реакцией, в том числе, сосудистой реакцией, миграцией полиморфноядерных нейтрофилов, дегрануляцией тучных клеток и выделением ими факторов хемотаксиса для иммунокомпетентных клеток, выделение тромбоцитарных факторов роста, инфильтрация, усиление пролиферативной активности и дифференцировки (Данилов Р.К., 2008; Новоселов В.П., Савченко С.В., Грицингер В.А. и др., 2014; Almeida C.F., Fernandes S.A., Ribeiro Junior A.F. et al., 2016). Происходит фагоцитоз поврежденных мышечных волокон или их восстановление, после чего начинается репаративный процесс, сопряженный с восстановлением и новообразованием мышечных волокон, ремоделированием соединительной ткани и образованием соединительнотканного рубца (Лебедева А.И., Муслимов С.А., Вагапова В.Ш., 2019; Beasi W.R., Toffoli L.V., Pelosi G.G. et al., 2021). Повреждение скелетных мышц является стимулом для активации миосателлитов (Almeida C.F., Fernandes S.A., Ribeiro Junior A.F. et al., 2016; Shang M., Cappellesso F., Amorim R. et al., 2020). Затем, вскоре после ранних этапов воспалительной реакции, происходит их пролиферация и дальнейшая дифференцировка.

Общая тенденция динамики повреждения скелетных мышц свидетельствует об увеличении частоты случаев и составляет более, чем 80 случаев в год на 1000 человек (Щетинин С. А., 2015). При этом, частота травматизации у детей вдвое выше, чем у взрослых и составляет по разным оценкам от 157 до 170 случаев на 1000 человек, а частота травм скелетных мышц составляет 22,4 – 25,8% от общего числа травм (Баиндурашвили А.Г., Шапиро К.И., Дрожжина Л.А. и др., 2016).

Несмотря на внедрение многочисленных методов стимуляции регенерации, многие из них инвазивны и требуют хирургического вмешательства (Лебедева А.И., Муслимов С.А., Вагапова В.Ш. и др., 2019). В то же время, лазерное воздействие неинвазивно и эффективно при облучении в проекции поврежденного участка ткани (De Marchi T., Schmitt V.M., Machado G.P. et al., 2017).

Одним из перспективных методов для активации клеток камбиального резерва скелетных мышц является применение лазерного воздействия. Так, лазерное облучение приводит к многочисленным эффектам, способствующим более скоротечному восстановлению скелетной мышечной ткани, в том числе усилению пролиферации, дифференцировки (Calles C., Schneider M., Macaluso F. et al., 2010; Rojas J.C., Gonzalez-Lima F., 2013), жизнеспособности (Esmaelinejad M., Bayat M., Darbandi H. et al., 2014) и миграции клеток (Oyebode O.A. и Houreld N.N., 2022). При этом, влияние инфракрасного и зеленого лазерного облучения на активацию миосателлитов *in vivo* и на процесс регенерации скелетной мышечной ткани остается малоизученным.

Цель исследования

Оценка влияния фотобиомодуляции различных длин волн (520 нм, 980 нм) и продолжительности (60 с., 180 с.) облучения на течение репаративной регенерации скелетной мышечной ткани крыс.

Задачи исследования

1. Оценить влияние фотобиомодуляции на содержание ядер в мышечных волокнах крыс в условиях репаративной регенерации.
2. Провести анализ содержания миосателлитоцитов в условиях репаративной регенерации скелетной мышечной ткани крыс при облучении инфракрасным и зеленым лазером.
3. Проанализировать содержание и функциональное состояние тучных клеток в регенерирующей скелетной мышечной ткани крыс при лазерной фотобиомодуляции.
4. Оценить содержание капилляров в регенерирующей скелетной мышечной ткани крыс после воздействия фотобиомодуляции инфракрасного и зеленого спектра.

Научная новизна исследования

На адекватной экспериментальной модели, воспроизводящей резаную рану скелетной мышцы, установлены особенности влияния фотобиомодуляции инфракрасного и зеленого спектра на течение регенерации скелетной мышечной ткани.

Впервые проведен сравнительный анализ влияния лазерного облучения инфракрасного и зеленого спектра при различных экспозициях на процессы репаративной регенерации скелетной мышечной ткани крыс.

Установлено, что инфракрасная (970 нм) и зеленая (520 нм) фотобиомодуляция продолжительностью 60 с. и 180 с. приводят к активации миосателлитоцитов, что способствует ускорению репаративного процесса. В пользу этого свидетельствует увеличение количества MyoD⁺ ядер и их площади, увеличение количества MyoD⁻ ядер и площади гипохромных ядер на ранних сроках исследования и усиление неоангиогенеза. Выявлено увеличение количества гиперхромных ядер в мышечных волокнах при воздействии после травмы инфракрасным лазером экспозицией 180 с.

Впервые показано, что зеленое лазерное облучение приводит к активации клеток камбиального резерва, что подтверждается увеличением площади MyoD⁺ ядер, их ядерно-цитоплазматического индекса на ранних сроках исследования. При этом, зеленая фотобиомодуляция приводила к усилению процессов новообразования капилляров.

Доказано, что инфракрасная фотобиомодуляция оказывает более выраженное, стимулирующее влияние на процессы репаративной регенерации скелетной мышечной ткани крыс по сравнению с облучением зеленым лазером.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об индуцирующем влиянии инфракрасного и зеленого лазерного облучения на процессы репаративной регенерации скелетной мышечной ткани крыс.

Полученные результаты расширяют представление о механизмах, лежащих в основе влияния лазерного облучения на процессы регенерации скелетных мышц при повреждении.

Полученные данные могут быть использованы при разработке оптимальных методов лазерной терапии с использованием излучения инфракрасного и зеленого спектра при травме скелетных мышц.

Результаты диссертационного исследования научно обосновывают целесообразность включения в алгоритм посттравматического лечения скелетных мышц фотобиомодуляции инфракрасного и зеленого спектра.

Положения, выносимые на защиту

1. Лазерное облучение инфракрасного и зеленого спектра оказывает стимулирующий эффект на активность клеток камбиального резерва скелетной мышечной ткани после однократного воздействия при мощности облучения 1 Вт и длительности облучения 60 с и 180 с.

2. Фотобиомодуляция инфракрасного и зеленого спектра приводит к увеличению репаративного потенциала регенерирующей скелетной мышечной ткани при мощности облучения 1 Вт и длительности облучения 60 с и 180 с.

Внедрение

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры Гистологии, эмбриологии и цитологии Южно-Уральского государственного медицинского университета (Раздел: «Скелетная мышечная ткань»), а также в научно-исследовательскую деятельность ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины».

Апробация полученных результатов

Полученные результаты доложены на научно-практической конференции с международным участием «Лазерная медицина в России: прошлое, настоящее и будущее» (Москва, 2023 г.), на VI инновационном Петербургском медицинском форуме «Медицина 2023 – наука, инновации и практика» (Санкт-Петербург, 2023 г.), на конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Регенеративная биология и медицина» (Москва, 2023 г.), «Физиология экстремальных состояний» имени заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора биологических наук, профессора А.П. Кузнецова» (Курган, 2024 г.), «Технологические инновации и научные открытия» (Уфа, 2024 г.), «Сибирский морфологический форум» (Томск, 2025 г.), IX Всероссийский съезд анатомов, гистологов и эмбриологов России «Фундаментальная и прикладная морфология в XXI веке» (Оренбург, 2025 г.).

Публикации

Соискатель имеет 24 опубликованные работы. По теме диссертации – 19 научных работ общим объемом 22,8 п. л., из них 13 работ опубликованы в научных журналах, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертации и в международных базах (Scopus – 4). В том числе 10 работ диссертанта опубликованы в изданиях, отнесенных к категориям К-1 и К-2. Соискатель имеет 2 монографии.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 199 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список использованных источников из 178 источников, в том числе 121 зарубежных авторов. Работа включает 13 таблиц и 63 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследования были выполнены на базе кафедры Гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины» в период с 2022 по 2024 г.

Работа с лабораторными животными осуществлялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.03.1986 г. Проведение исследования одобрено на заседании этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава № 2 от 21.02.2022 г.

Исследования были проведены на белых лабораторных крысах (половозрелых самцах) линии Wistar на 4-6 месяц постнатального развития. В общей совокупности в работе использованы 208 лабораторных животных. Из них 8 интактных животных и 200 опытных животных, разделенных на группы в соответствии со сроком выведения из эксперимента и с осуществляемым воздействием. Модель посттравматической регенерации осуществлялась путем нанесения резаной травмы 200-м самцам крыс под общим обезболиванием препаратом «Золетил» в дозе 5 мл/кг. Для доступа к икроножной мышце производили разрез кожных покровов длиной 1 см на дорсальной поверхности задних

конечностей ниже коленного сустава на 0,4 – 0,5 см в проекции *m. gastrocnemius*. Хирургическим скальпелем производили механическое повреждение мышцы путем выполнения надреза перпендикулярно длиннику большеберцовой кости на глубину 2 мм. 40 самцам наносили резаную рану *m. gastrocnemius* (I экспериментальная группа). Животные II экспериментальной группы ($n = 40$) после нанесения раны икроножной мышцы подвергались воздействию инфракрасного лазерного облучения с экспозицией в 1 минуту в проекции *m. gastrocnemius*, а животные III экспериментальной группы подвергались облучению инфракрасной фотомодуляции в течение 3-х минут. Самцы IV и V групп подвергались воздействию зеленого лазерного облучения с экспозицией в 1 и 3 минуты соответственно.

Воздействие лазером осуществлялось однократно на раневую поверхность в непрерывном режиме. Излучение подавалось через моноволоконный кварцевый световод с диаметром светонесущей жилы 0,4 мм. Обработку раневой поверхности производили с расстояния 5 мм сканирующими движениями со скоростью продвижения 5 мм/сек. Инфракрасное лазерное воздействие осуществлялось с помощью аппарата ИРЭ «Полюс» (Россия) со следующими параметрами: длина волны 970 нм, мощность 1,0 Вт. Зеленая фотомодуляция осуществлялась посредством использования лазера «Малахит» (Россия) со следующими параметрами: длина волны 520 нм, мощность 1,0 Вт. Лабораторных животных I – V опытных групп (8 особей на срок) выводили из эксперимента на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки. Сроки исследования согласуются с общепризнанным подразделением основных периодов репаративной регенерации у данной группы животных: фаза экссудации (1-7 сутки), фаза пролиферации (7-30 сутки), фаза рубцевания (14-30 сутки).

Оценку репаративной регенерации поперечнополосатой скелетной мышечной ткани производили в очаговой и интактной зонах. Экспериментально нами установлено, что основные деструктивные изменения после резанной травмы наблюдались на участке мышечной ткани площадью 9 мм² (очаговая зона). Участки, отдаленные от очага поражения на 2 мм (шириной 2-5 мм) мышечной ткани рассматривали в качестве интактной зоны.

Подсчет количества гиперхромных и гипохромных ядер осуществляли из расчета на 1 мм². Количественную оценку гиперхромных и гипохромных ядер мышечных волокон осуществляли при увеличении $\times 200$ (об. $\times 20$; ок. $\times 10$), а размеры ядер при увеличении $\times 1000$ (об. $\times 100$; ок. $\times 10$) с использованием системы захвата и обработки изображения с лицензированным программным обеспечением «Image Score M».

Осуществляли подсчет количества ядер в соединительной ткани на мм². С помощью программного обеспечения осуществляли подсчет удельной площади ядер. Кроме того, проводили анализ плотности расположения капилляров из расчета на 1 мм².

Для выявления тучных клеток срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали по общепринятой методике толуидиновым синим (Меркулов, 1961). Оценку морфофункционального состояния тучных клеток скелетной мышечной ткани производили по общепринятой методике Линднер Д.П. и др. (1980). При этом, подсчитывалось общее содержание тучных клеток в пересчете на мм² при увеличении 400 (окуляр $\times 10$; объектив $\times 40$).

Для оценки функционального состояния тучных клеток производили определение индекса гранулярного насыщения тучных клеток и индекса дегрануляции. Индекс гранулярного насыщения осуществляли по формуле Астальди и Верга.

Индекс дегрануляции (ИД) тучных клеток мышечной ткани определяли как отношение числа дегранулирующих мастоцитов к общему содержанию тучных клеток.

На серийных гистологических срезах скелетной мышцы (*m. gastrocnemius*) экспериментальных животных иммуногистохимически определяли миогенные факторы MyoD. Окраску проводили с использованием первичных поликлональных антител с докраской ядер гематоксилином по общепринятой методике (Rodrigues N.C., Brunelli R.; de Araújo, H.S.S. et al., 2013; Brunelli, Roberta M., Rodrigues, Natalia C., Ribeiro, Daniel A., 2014).

Отпрепарированную скелетную мышцу экспериментальных животных фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 72 часов. После фиксации на базе ГБУЗ «Челябинское областное патологоанатомическое бюро» осуществляли проводку материала, для чего использовали стандартную схему проводки в гистологическом процессоре «Tissue-Tek VIP 5» («Sakura», Япония). Затем материал заливали в парафиновые блоки, ориентируя фрагменты параллельно плоскости среза. Для изготовления среза использовали микротом MICROM ERGOSTAR HM 200 с системой переноса срезов. Срезы монтировали на предметные стекла с поверхностным зарядом (Thermo Scientific Superfrost Ultra Plus Adhesion Slides).

Полученные срезы инкубировали с первичными поликлональными антителами. Рабочую концентрацию антител определяли исходя из рекомендаций производителя на материале с достоверной экспрессией данных антител. Иммуногистохимическое окрашивание производили в иммуногистостейнере «BenchMark XT» («Ventana», США) с использованием системы детекции ultra View Universal DAB Detection Kit. Анализ полученных результатов производили на микроскопе при увеличении $\times 400$ (об $\times 40$; ок. $\times 10$). При этом проводили подсчет числа MyoD^+ и MyoD^- ядер мышечных волокон, а также определяли площадь ядер и цитоплазмы, что позволило в последующем определить их ядерно-цитоплазматическое отношение.

После этого производили подсчет соотношений между ядрами, в том числе, отношение количества MyoD^+ к MyoD^- ядрам, отношение количества MyoD^- гиперхромных ядер к MyoD^- гипохромным ядрам, отношение площади MyoD^+ ядер к площади MyoD^- и отношение площади ядер интактной зоны к очаговой (MyoD^+ , MyoD^-). Так, отношение количества MyoD^+ к MyoD^- ядер свидетельствует о состоянии скелетной мышечной ткани, в том числе, о наличии каких-либо факторов, играющих роль стимула активирующего клетки камбиального резерва скелетной мышечной ткани.

В ходе статистической обработки полученных данных использовали методы описательной статистики и выборочных сравнений. Для количественных показателей рассчитывали среднее арифметическое с указанием 95% доверительных интервалов. Для сравнения средних значений исследуемых показателей, полученных в ходе эксперимента, использовали смешанную перекрёстно-иерархическую модель (Montgomery D.C., 2020) четырёхфакторного дисперсионного анализа с факторами: «Воздействие» (фиксированный, 6 градаций, соответствующих интактным животным, группе динамического контроля и 4-м вариантам воздействия лазером), «Срок» (фиксированный, 5 градаций, соответствующих 1, 3, 7, 14 и 30 сутки после нанесения резаной травмы), «Зона» (фиксированный, 2 градации, соответствующие интактной и очаговой зонам раны / 2 градации, соответствующие MyoD^+ и MyoD^- ядрам) и «Индивид внутри Обработки и Срока» (случайный, 8 градаций, соответствующих 8 лабораторным животным в каждой ячейке дисперсионного комплекса). Парные апостериорные сравнения интересующих ячеек дисперсионного комплекса в рамках модели проводили по Тьюки.

Расчёты и графические построения выполнены в пакетах Statistica (version 12,5; StatSoft Inc.) и PAST (version 4.12b (Hammer Ø., Harper D.A., Ryan P.D., 2001)). Эффекты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми – при $p > 0,10$.

СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая морфологическая характеристика репаративного процесса скелетных мышц экспериментальных животных

Прежде всего, нами был проведен морфологический анализ репаративного процесса на разных сроках эксперимента. Так, на первые сутки (после повреждения икроножной мышцы) репаративной регенерации в очаговой зоне были выявлены участки разрыва и фрагментации скелетных мышечных волокон. При этом, у животных, подвергшихся лазерному облучению, фрагментация мышечных волокон выявлялась в меньшей степени,

что согласуется с работами, свидетельствующими об увеличении жизнеспособности клеток после лазерного облучения. Кроме того, в области повреждения мышечной ткани обнаруживались полиморфноядерные нейтрофилы. Выявлялась вазоконстрикция. На 3-й день исследования обнаруживались незначительные инфильтрационные очаги, в числе которых идентифицировались клетки макрофагального ряда, некротизированные мышечные волокна. Происходило образование грануляционной ткани, обогащенной кровеносными сосудами, в большей степени у животных, подвергшихся зеленой фотобиомодуляции. К 7-му дню наблюдения в очаговой зоне обнаруживали лимфоидный инфильтрат и участки некротизированных мышечных волокон с преобладанием клеток макрофагального ряда. Отечность на 7-й день наблюдения снижена по сравнению с таковой на предыдущем сроке наблюдения. Затем, на 14-е сутки исследования отек снижался, выявлялся инфильтрат у поврежденного участка мышечных волокон. К 30-му дню наблюдения в очаговой зоне выявляли образование мышечно-соединительнотканного регенерата, что находится в соответствии с результатами других исследований, новообразованные мышечные волокна несколько увеличивались в размерах, присутствовали следы инфильтрата.

Величина скелетных мышечных волокон после воздействия фотобиомодуляции инфракрасного и зеленого спектра

В следующей серии исследований нами проведена оценка морфофункционального состояния регенерирующей скелетной мышцы после инфракрасного и зеленого лазерного облучения.

На 1-е сутки исследования происходит увеличение площади поперечного сечения исследуемого показателя вследствие воспалительной реакции, к 3-м – снижение, а к 7-у дню происходит компенсаторное увеличение площади поперечного сечения мышечных волокон. На 14-й и 30-й дни происходило снижение исследуемого показателя, связанное с появлением новообразованных мышечных волокон, размер которых увеличивается к 30-у дню эксперимента. Установлено, что влияние фотобиомодуляции приводило к увеличению площади поперечного сечения скелетных мышечных волокон на ранних сроках исследования при облучении инфракрасным лазерным облучением.

Характеристика мышечных ядер в регенерирующей мышечной ткани

Информационно емким критерием является плотность расположения ядер в мышечных волокнах. У животных, подвергшихся моделированию резаной травмы, обнаруживалась тенденция к увеличению данного показателя к поздним срокам исследования (рисунок 1). Установлено, что у животных после инфракрасной фотобиомодуляции происходило увеличение занимаемой ядрами площади на ранних сроках исследования и на 14-й день эксперимента. В группах применения зеленой фотобиомодуляции увеличение исследуемого показателя обнаруживалось только на следующий день после травмы.

Для оценки динамики репаративного процесса был проведен анализ плотности расположения ядер на 1 мм^2 . Установлено, что фотобиомодуляция приводила к увеличению количества ядер в мышечном волокне на следующий день после травмы. В то же время, инфракрасная фотобиомодуляция вызывала более выраженное увеличение количества ядер и приводила к увеличению исследуемого показателя на 14-е сутки наблюдения.

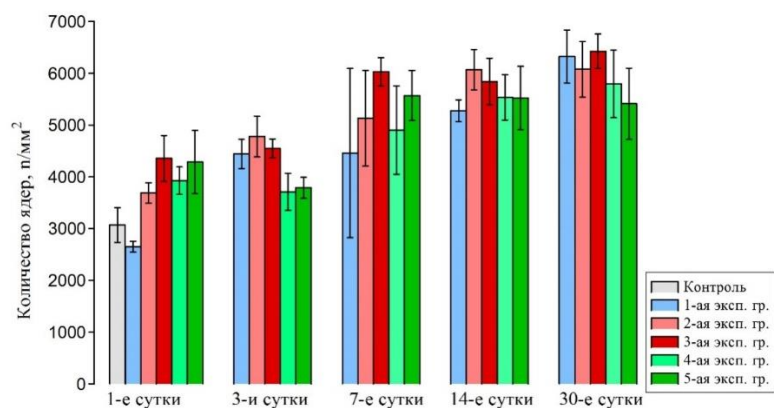


Рисунок 1. Плотность расположения ядер в очаговой зоне регенерирующей скелетной мышечной ткани, М [-95% ; +95%].

Известно, что в мышечных волокнах обнаруживаются ядра с различной степенью конденсации хроматина (гиперхромные и гипохромные). Гиперхромные ядра, являются либо покоящимися миосателлитоцитами, либо клетками, недавно претерпевшими активацию, которая еще не проявилась в изменении конденсации хроматина (Малашко В.В., Шенгаут Л.Д., Латвис В. и др., 2019; Вильчинская Н.А., Шенкман Б.С., 2021).

Таким образом, нами был проведен количественный анализ гиперхромных (рисунок 2) и гипохромных (рисунок 3) ядер в регенерирующей скелетной мышечной ткани.

Сравнительный анализ влияния лазерного облучения инфракрасного и зеленого спектров на количество гиперхромных ядер регенерирующих скелетных мышц позволил выявить более выраженный стимулирующий эффект при использовании инфракрасного лазерного облучения (рисунок 2). При этом, полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют, что увеличение длительности воздействия инфракрасного лазерного облучения приводит к большему (по сравнению с более кратковременным воздействием) увеличению количества гиперхромных ядер в регенерирующих скелетных мышцах.

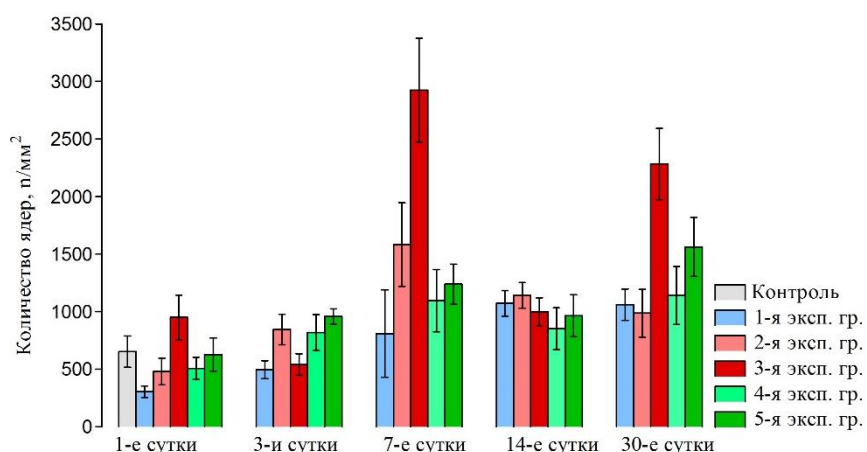


Рисунок 2. Плотность расположения гиперхромных ядер в очаговой зоне регенерирующей скелетной мышечной ткани, М [-95% ; +95%].

Анализ плотности расположения гипохромных ядер в регенерирующей скелетной мышечной ткани позволил установить увеличение количества гипохромных ядер на протяжении эксперимента.

Помимо миосателлитоцитов, в ядрах которых преобладает гетерохроматин (Малашко В.В., Шенгаут Л.Д., Латвис В. и др., 2019; Вильчинская Н.А., Шенкман Б.С., 2021), в мышечных волокнах скелетных мышц присутствуют собственные ядра мышечных

волокон. Их число кратно превышает число миосателлитоцитов (Одинцова И.А., Чепурненко М.Н., Комарова А.С., 2014; Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А., 2015), а выполняемые ими функции заключаются в поддержании функционирования скелетных мышечных волокон.

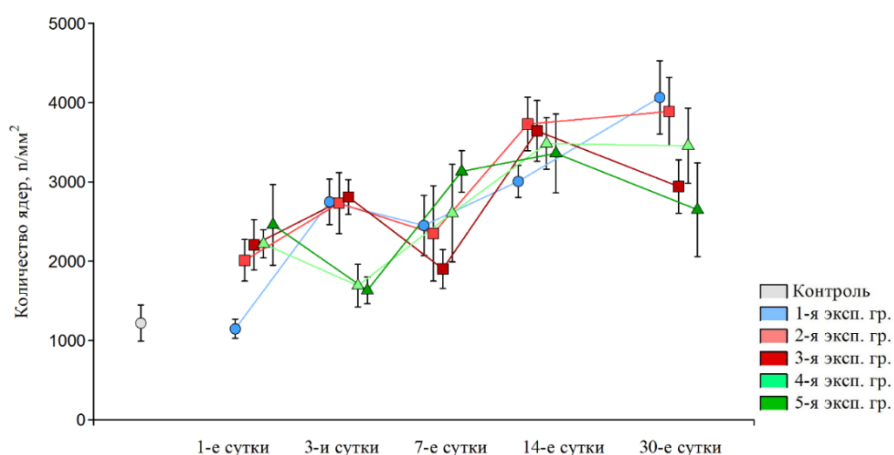


Рисунок 3. Плотность расположения гипохромных ядер в очаговой зоне регенерирующей скелетной мышечной ткани, М [-95%; +95%].

Использование кратковременного лазерного облучения приводило к увеличению количества гипохромных ядер в большей степени, чем при более продолжительном воздействии.

Анализ полученных результатов позволил установить, что применение инфракрасного лазерного облучения приводит к большему увеличению числа гипохромных ядер в очаговой зоне по сравнению с использованием зеленой фотомодуляции. Так, количество ядер увеличивалось на 14-е сутки после применения инфракрасного лазера. В пользу эффективности зеленого лазерного облучения свидетельствует увеличение количества гипохромных ядер на 7-й день эксперимента.

С целью оценки пролиферирующих и дифференцирующихся ядер в мышечных волокнах регенерирующей скелетной мышечной ткани был проведен качественный и количественный анализ ядер, экспрессирующих факторы группы миогенных активаторов – MyoD (Одинцова И.А., Чепурненко М.Н., Комарова А.С., 2014; Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А., 2015).

Сравнительный анализ количества MyoD⁺ ядер в очаговой зоне в группах применения лазерного облучения указывает на более выраженный стимулирующий исследуемый показатель эффект (рисунок 4) кратковременного лазерного облучения инфракрасного и зеленого спектра на ранних сроках наблюдения (рисунок 5). Достоверных различий между инфракрасным кратковременным облучением и зеленой фотомодуляцией (кратковременной и длительной) не наблюдалось. При этом, в очаговой зоне у животных после длительной инфракрасной фотомодуляции количество MyoD⁺ ядер на 3-и и 7-е сутки снижалось до уровня более низкого чем у животных, подвергшихся кратковременной зеленой фотомодуляции.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что длительное инфракрасное лазерное облучение не способствует увеличению количества MyoD⁺ ядер в регенерирующей скелетной мышечной ткани в очаговой и интактной зонах.

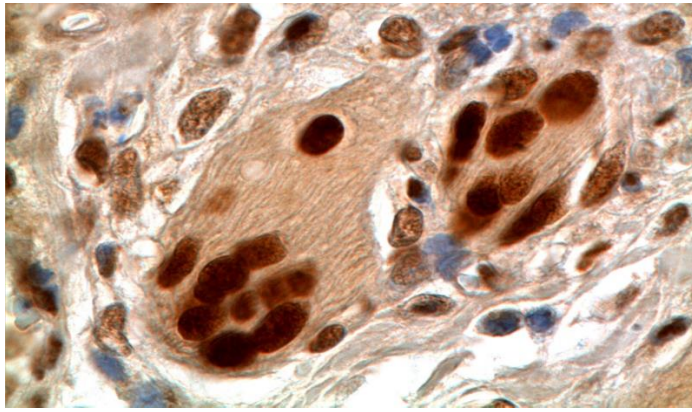


Рисунок 4. Скелетная мышечная ткань крысы контрольной группы на 7-е сутки эксперимента. Экспрессия MyoD в крупных ядрах скелетных мышечных волокон. Очаговая зона. Окраска: MyoD, докрасивание гематоксилином. Микрофото. Ув. $\times 1000$ (об. $\times 100$; ок. $\times 10$)

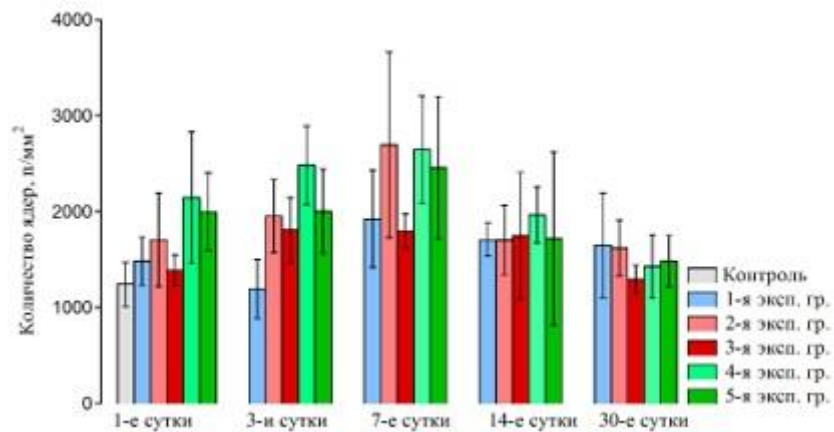


Рисунок 5. Количество MyoD-позитивных ядер (MyoD^+) в очаговой зоне регенерирующих мышечных волокон, М [-95%; +95%].

Анализ влияния лазерного облучения инфракрасного и зеленого спектров кратковременного и длительного режимов облучения позволил установить, что кратковременное облучение инфракрасным лазером приводило к наибольшему увеличению количества гиперхромных ядер (MyoD^-) в регенерирующей скелетной мышечной ткани (рисунок 6).

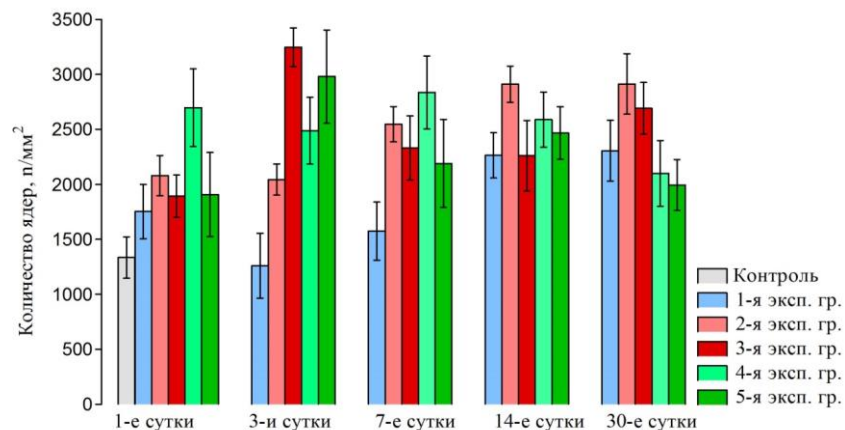


Рисунок 6. Количество гипохромных ядер (MyoD^-) в очаговой зоне регенерирующих мышечных волокон, М [-95%; +95%].

Количество зрелых мышечных ядер является неотъемлемым критерием функциональной активности и зрелости скелетной мышечной ткани. Так, взросление организма сопровождается увеличением количества ядер в мышечных волокнах (Schiaffino S., Dyar K.A., Ciciliot S. et al., 2013; Hansson KA, Eftestol E., 2023).

Установлено, что влияние инфракрасного и зеленого лазерного облучения имело отличительные черты. Так, инфракрасное лазерное облучение способствовало увеличению количества гипохромных ядер (MyoD-) на поздних сроках наблюдения (рисунок 6). Использование зеленой фотобиомодуляции приводило, наоборот, к увеличению исследуемого показателя на ранних сроках наблюдения.

Величина ядер мышечных волокон и их ядерно-цитоплазматический индекс

Известно, что площадь ядра является ключевым показателем, демонстрирующим уровень синтетической активности клетки (Joplin R.E., Franchi L.L., Salmons S., 1987). При этом, данный показатель косвенно указывает на текущий этап клеточного цикла, определяет стабильность нуклеосом и структуру хроматина (Efremov A.K., Novan L., Yan J., 2022), указывает на возраст организма и наличие заболеваний (Scaffidi P., Misteli T., 2006; Cantwell H., Dey G., 2021).

В связи с этим нами был проведен анализ площади гиперхромных ядер в мышечных волокнах после резаной травмы скелетной мышечной ткани (рисунок 7, 8).

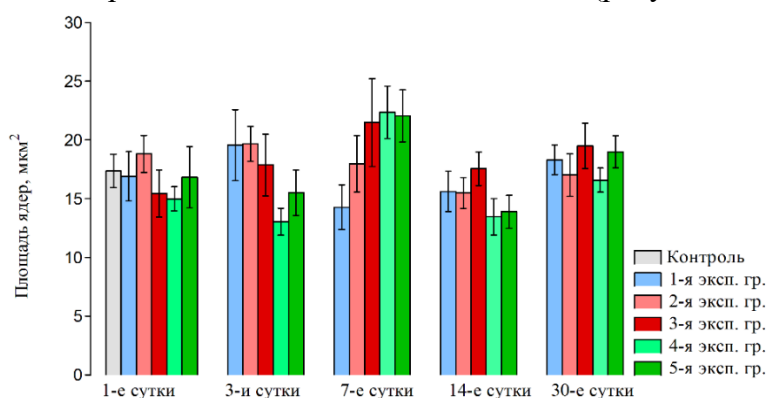


Рисунок 7. Площадь гиперхромных ядер в очаговой зоне регенерирующей скелетной мышечной ткани, М [-95%; +95%].

Сравнительный анализ влияния фотомодуляции с различной длиной волны в очаговой зоне свидетельствует о более выраженной стимуляции исследуемого показателя лазерным излучением инфракрасного спектра на большинстве сроков исследования.

Ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ) считается чувствительным критерием оценки активности клеток (рисунок 8), что находится в соответствии со множеством работ (Balachandra S., Sarkar S., Amodeo A.A. et al., 2022; Olivetta M., Dudin O. et al., 2023).

Так, установлено, что отношение площади ядра к площади цитоплазмы зависит от типа клетки, уровня дифференцировки, синтетической активности и её возраста (Balachandra S., Sarkar S., Amodeo A.A. et al., 2022).

Анализ ядерно-цитоплазматического индекса MyoD⁺ ядер (рисунок 9), позволил установить, что фотобиомодуляция приводит к достоверному увеличению исследуемого показателя в регенерирующих мышцах. Обращает на себя внимание более выраженное увеличение ЯЦИ у животных, подвергшихся более кратковременному воздействию инфракрасной фотобиомодуляции на 3-и, 14-е и 30-е сутки исследования.

Сравнительный анализ воздействия инфракрасным и зеленым лазерным облучением указывает на то, что применение инфракрасного лазерного облучения экспозицией 60 с приводит к наиболее выраженным изменениям исследуемого показателя в очаговой и интактной зонах. Остальные режимы лазерного облучения обладали сравнительно меньшим и примерно одинаковым (при сравнении друг с другом) эффектом.

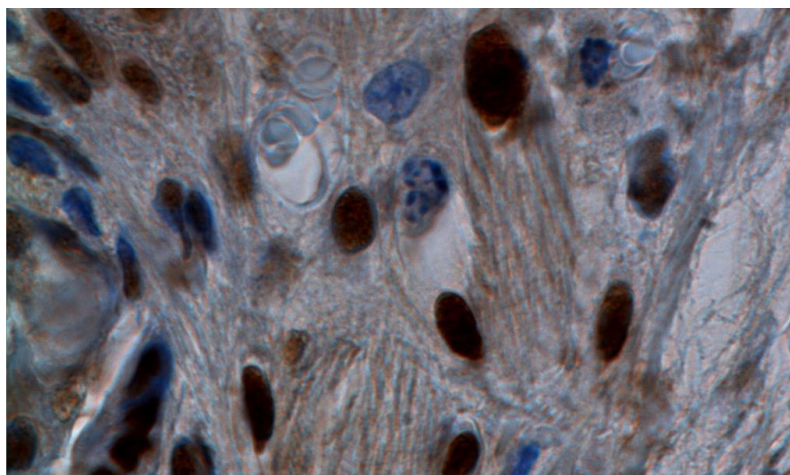


Рисунок 8. Скелетная мышечная ткань крысы, подвергшейся зеленой фотобиомодуляции 60 с (экспозиция) на 7-е сутки наблюдения. Очаговая зона. MyoD⁺ ядра в новообразованных скелетных мышечных волокнах. Окраска: MyoD, докрасивание гематоксилином. Микрофото. Ув. × 1000 (об. × 100; ок. × 10)

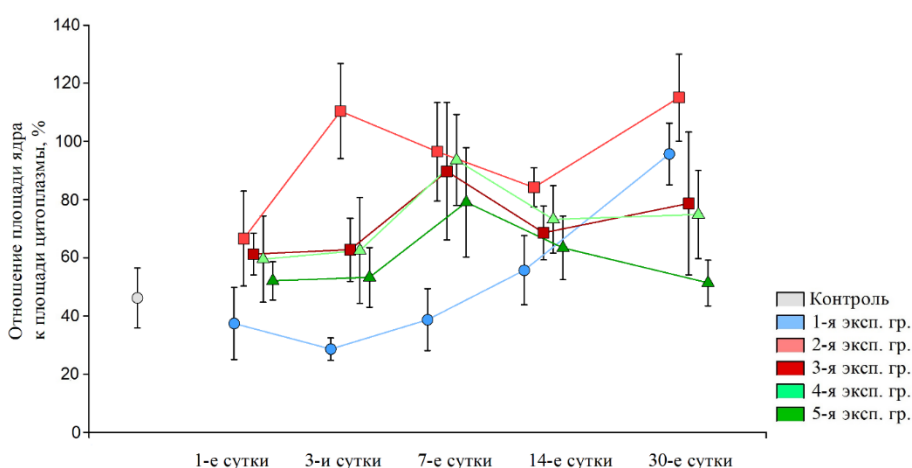


Рисунок 9. Ядерно-цитоплазматический индекс MyoD⁺ ядер в очаговой зоне мышечных волокон регенерирующей скелетной мышечной ткани, M [-95% ; +95%].

Характеристика межмышечной соединительной ткани в регенерирующей мышечной ткани после лазерного облучения

Известно, что в поврежденной скелетной мышечной ткани трофика зон посттравматических изменений может определять исход регенераторного процесса.

В связи с этим была проведена оценка количества капилляров в очаговой зоне у животных, подвергшихся моделированию резаной травмы (рисунок 10). На первых сроках наблюдения (1-е, 3-и и 7-е сутки) происходило достоверное снижение количества капилляров, обусловленное повреждением ткани. На поздних сроках эксперимента происходило восстановление количества капилляров до уровня, характерного для животных контрольной группы.

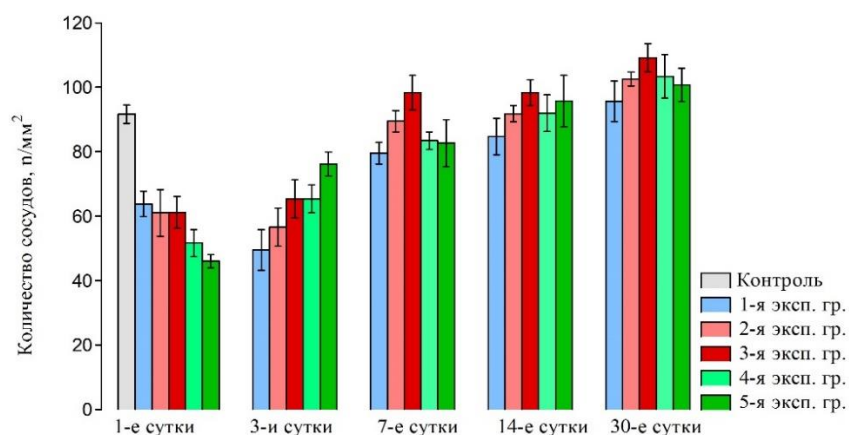


Рисунок 10. Суммарное количество капилляров в очаговой зоне соединительной ткани, прилежащей к регенерирующей мышечной ткани, М [-95%; +95%].

Сравнительный анализ изменения количества капилляров при инфракрасной и зеленой фотобиомодуляции позволил установить, что инфракрасное лазерное облучение способствовало более выраженному увеличению данного показателя на большинстве сроков исследования. Механизм влияния фотобиомодуляции на неоваскуляризацию связывают с усилением экспрессии транскрипционных факторов HIF-1 α , VEGF (Cury V., Moretti A.I.S., Assis L. et al., 2013) и с регуляцией клеточного цикла эндотелиоцитов, что приводит к образованию капилляров (Avcı P., Gupta G.K, Clark J. et al., 2014).

Морфофункциональная характеристика тучных клеток в соединительной ткани регенерирующей мышечной ткани

Известно, что тучные клетки являются регуляторами тканевого гомеостаза малого радиуса действия (Сепиашвили Р.И., Бережная Н.М., 2015; Мангушева Л. Х., Брюхин Г. В., 2018).

Сравнительный анализ воздействия инфракрасного и зеленого лазерного облучения позволил выявить следующую закономерность. Так, у животных обеих экспериментальных групп первоначально наблюдалось увеличение числа тучных клеток, наиболее выраженное у животных 3-й группы. Однако, если у животных, подвергшихся инфракрасному лазерному облучению, наблюдалось увеличение количества тучных клеток на 7-е сутки наблюдения, то у животных, подвергшихся воздействию зеленого лазерного облучения, выявлялось заметное снижение исследуемого показателя и на 3-и, и на 7-е сутки (рисунок 11).

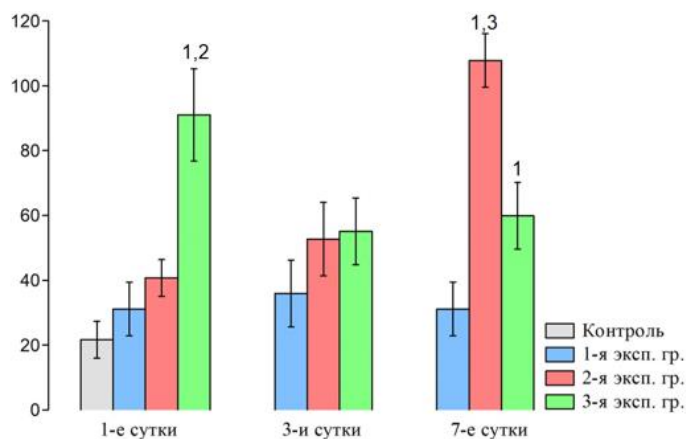


Рисунок 11. Количество тучных клеток в икроножной мышце (n/mm²) (m. gastrocnemius) экспериментальных животных, М [-95%; +95%].

Установлено, что индекс гранулярного насыщения тучных клеток после фотобиомодуляции был увеличен по сравнению с животными после моделирования только резаной травмы. При этом, исследуемый показатель достоверно увеличивался у животных после инфракрасной фотобиомодуляции с экспозицией 60 с, по сравнению с таковым у животных после воздействия зеленым лазерным облучением на ранних сроках исследования (рисунок 12).

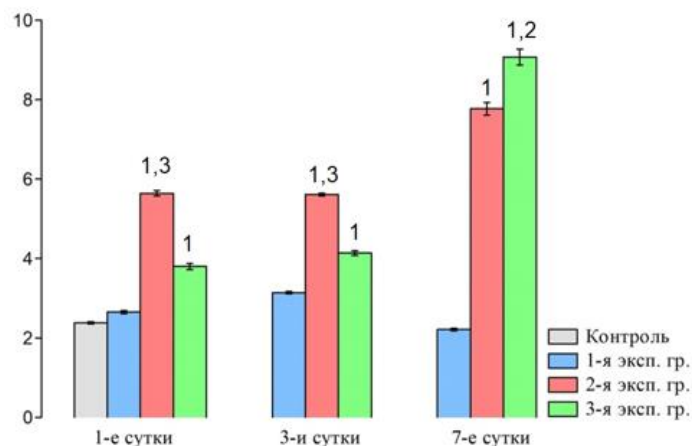


Рисунок 12. Индекс гранулярного насыщения тучных клеток в икроножной мышце (*m. gastrocnemius*) экспериментальных животных, М [-95%; +95%].

Наиболее чувствительным индикатором экскреторной активности тучных клеток является уровень их дегрануляции. При оценке индекса дегрануляции дегрануляции мы учитывали количество недегранулирующих и дегранулирующих форм тучных клеток (Линднер Д.П. с соавт., 1980).

У животных, подвергшихся воздействию фотобиомодуляции, происходило увеличение индекса дегрануляции на большинстве сроков исследования (рисунок 13).

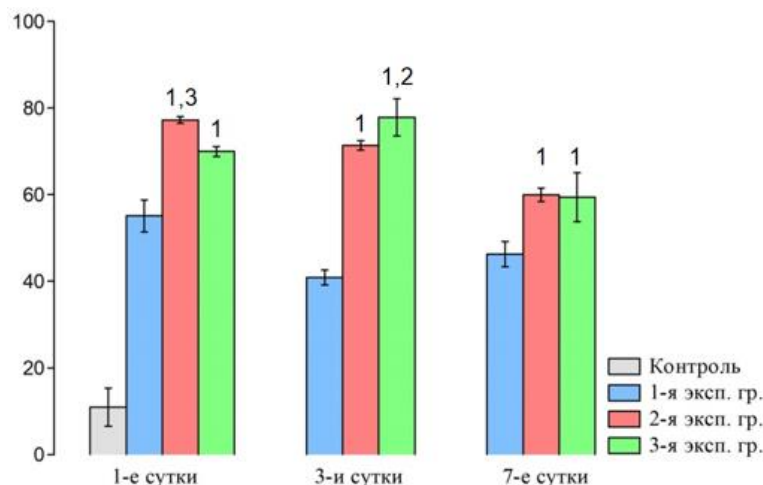


Рисунок 13. Индекс дегрануляции тучных клеток в икроножной мышце (*m. gastrocnemius*) экспериментальных животных, М [-95%; +95%].

Сравнительный анализ дегрануляционной активности мастоцитов у животных после инфракрасного и зеленого лазерного облучения позволил установить следующее. После фотобиомодуляции инфракрасным лазером индекс дегрануляции достигал максимальных значений на 1-й день эксперимента, а после зеленой фотобиомодуляции – на 3-й день наблюдения.

Таким образом, анализ полученных данных позволяет констатировать регулирующее действие лазерного облучения на функциональную активность тучных

клеток и свидетельствует, что инфракрасное лазерное облучение обуславливает выраженное увеличение индекса гранулярного насыщения.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать заключение, что поглощение фотоакцепторами инфракрасной и зеленой фотобиомодуляции приводит к усилению пролиферации и дифференцировке клеток камбиального резерва скелетной мышечной ткани (рисунок 14), усилению функциональной активности тучных клеток.

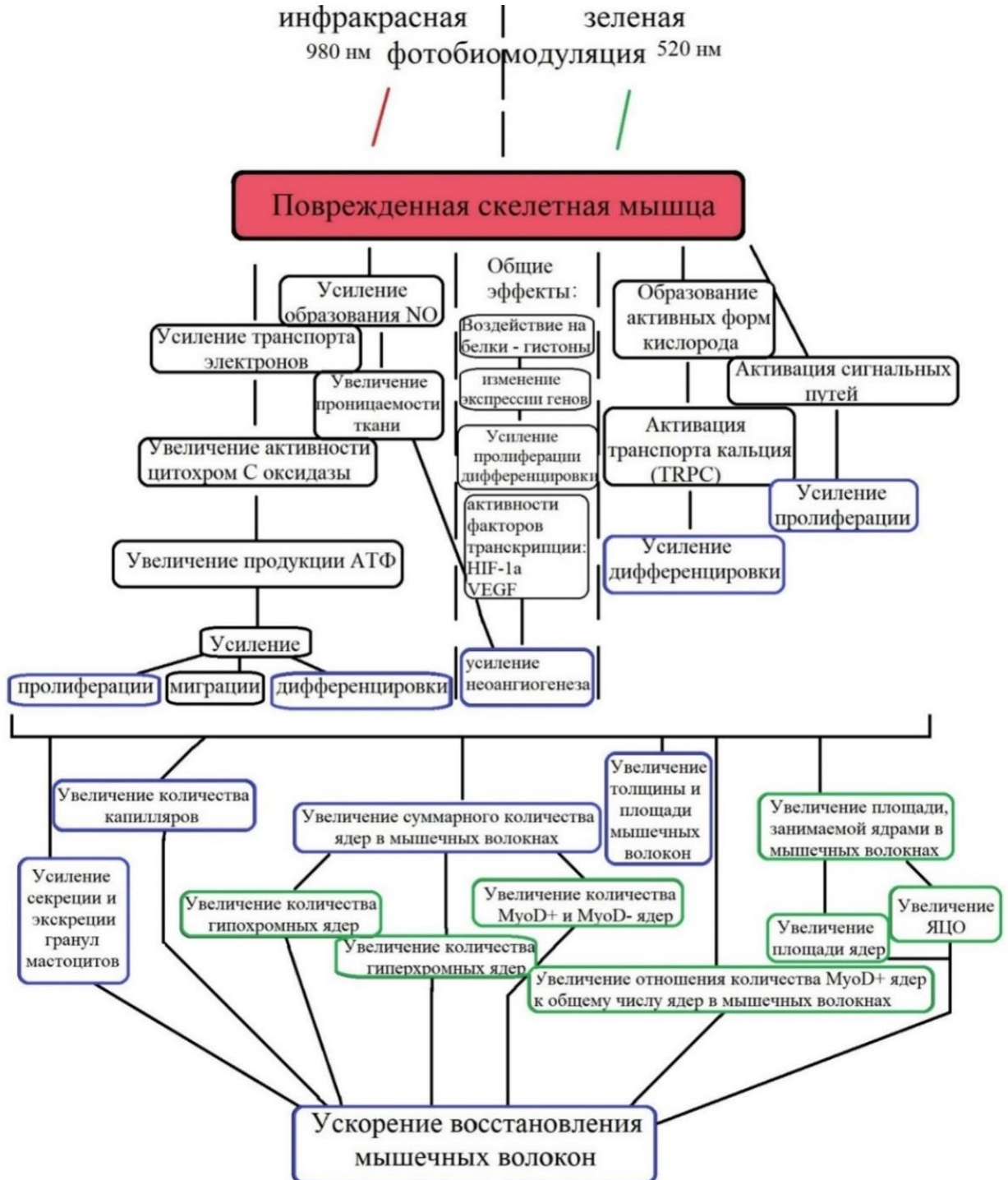


Рисунок 14. Механизм воздействия фотобиомодуляции на репарацию скелетной мышечной ткани. Черным цветом отмечены данные литературы, синим – результаты, согласующиеся с данными литературы, зеленым – собственные данные

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что лазерное облучение способствует репарации поврежденной скелетной мышечной ткани, что нашло своё проявление в снижении на ранних сроках исследования фрагментации мышечных волокон.

Использование фотобиомодуляции приводило к усилению пролиферативной активности и дифференцировки, о чем свидетельствует увеличение суммарного количества ядер в мышечных волокнах, количества гипохромных и гиперхромных ядер, количества MyoD⁺ ядер, их площади и ядерно-цитоплазматического индекса, отношения количества MyoD⁺ ядер к количеству MyoD⁻ ядер, отношения количества MyoD⁻ гипохромных ядер к количеству гиперхромных MyoD⁻ ядер.

Сравнительный анализ полученных результатов позволил установить, что инфракрасное лазерное облучение в большей степени приводило к увеличению количества ядер, их площади, ядерно-цитоплазматического индекса, снижению отношения количества гипохромных ядер к гиперхромным ядрам, что свидетельствует об относительно большем количестве MyoD⁺ ядер в мышечных волокнах и в соединительной ткани, количества капилляров и обуславливает увеличенный регенераторный потенциал по сравнению с группой применения зеленой фотобиомодуляции.

Таким образом, фотобиомодуляция способствует более быстрой и качественной регенерации, о чем свидетельствуют результаты качественного и количественного анализа. При этом, инфракрасная фотобиомодуляция проявляла себя как более эффективное средство стимуляции регенерации по сравнению с лазерным облучением зеленого спектра, о чем свидетельствовало увеличение большинства исследуемых показателей. Негативных последствий применения зеленого лазерного облучения при мощности облучения 1 Вт и длительности облучения 60 с и 180 с не было обнаружено.

Выводы

1. Использование однократной фотобиомодуляции инфракрасного и зеленого спектров после нанесения резаной травмы приводит к увеличению содержания ядер в скелетных мышечных волокнах регенерирующих мышц.
2. Инфракрасная фотобиомодуляция (1 Вт, 60 с, 180 с) способствует активации миосателлитов в условиях посттравматической регенерации, что находит свое подтверждение в увеличении количества и площади MyoD⁺ и MyoD⁻ клеток и их ядерно-цитоплазматического индекса.
3. Использование зеленого лазерного облучения (1 Вт, 60 с, 180 с) приводит к увеличению активности клеток камбиального резерва в регенерирующей скелетной мышечной ткани крыс, о чем свидетельствует увеличение площади MyoD⁺ ядер, их ядерно-цитоплазматического индекса на ранних сроках исследования.
4. Применение однократного лазерного облучения инфракрасного и зеленого спектра приводит к усилению неоангиогенеза, о чем свидетельствует увеличение количества капилляров на единицу условной площади.
5. Лазерное облучение (1 Вт, 60 с) вызывает увеличение числа тучных клеток в регенерирующей скелетной мышечной ткани и стимулирует их функциональную активность на 1-е, 3-и и 7-е сутки, о чем свидетельствует увеличение индекса гранулярного насыщения и индекса их дегрануляции.

Список работ, опубликованных по тебе диссертации

1. Основные способы адаптации мышечных волокон к нагрузке и пути их реализации / Р.В. Галлямутдинов, А.Д. Каштанов, Е.В. Куставинова [и др.] //

Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2019. – Т. 3, № 4. – С. 28-33.

2. Галлямутдинов, Р.В. Влияние лазерного инфракрасного излучения на некоторые морфофункциональные показатели регенерирующей скелетной мышцы в возрастном аспекте. / Р.В. Галлямутдинов, Л.В. Астахова, Е.С. Головнева [и др.] // Лазерная медицина. – 2020. – Т. 24, № 2-3. – С. 90-94.

3. Галлямутдинов, Р.В. Регенерация скелетной мышечной ткани крыс, стимулированная лазерным излучением / Р. В. Галлямутдинов // Студент и научно-технический прогресс : материалы XLIV научной конференции молодых учёных, Челябинск, 01–17 апреля 2020 года. – Челябинск: Челябинский государственный университет, 2020. – С. 94-96.

4. Галлямутдинов, Р.В. Влияние лазерного излучения на показатель цитоза межмышечной соединительной ткани / Р.В. Галлямутдинов, Л.В. Астахова, Е.С. Головнева, О.Ю. Серышева // Актуальные вопросы хирургии : Сборник научно-практических работ. – Челябинск : ООО фирма "ПИРС". – 2020. – С. 177-179.

5. Тишевская Н.В. Ксеногенная лимфоцитарная РНК стимулирует физиологическую регенерацию скелетных мышц / Н.В. Тишевская, Е.С. Головнева, Р.В. Галлямутдинов [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23, № 3. – С. 134-141.

6. Галлямутдинов, Р.В. Инфракрасное лазерное воздействие в комбинации с приемом аминокислот с разветвленной боковой цепью стимулирует физиологическую адаптацию скелетных мышц. / Р.В. Галлямутдинов, Е.С. Головнева, Ж.А. Ревель-Муроз [и др.] // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 40-46.

7. Галлямутдинов, Р.В. Влияние инфракрасного лазерного воздействия на морфометрические показатели скелетной мышечной ткани в тренировочном процессе (экспериментальное исследование) / Р.В. Галлямутдинов, Е.С. Головнева // Вестник ВолГМУ. – 2021. – № 3 (79). – С. 170-173.

8. Астахова, Л.В. Влияние фотомодуляции на площадь ядер и количество миосателлитов в регенерирующей мышце у животных разных возрастных групп / Л.В. Астахова, Р.В. Галлямутдинов, Е.С. Головнева // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 49-50.

9. Галлямутдинов, Р.В. Влияние инфракрасного лазерного излучения и приема аминокислот на адаптацию сосудистого русла межмышечной соединительной ткани к физическим нагрузкам в эксперименте / Р.В. Галлямутдинов, Е.С. Головнева, Г.В. Брюхин // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – Т. 19, № 1. – С. 158-161.

10. Галлямутдинов, Р. В. Влияние приема ВСАА и непрямого инфракрасного лазерного облучения на адаптацию скелетных мышц в тренировочном процессе / Р. В. Галлямутдинов, Г. В. Брюхин, Е. С. Головнева // Образование магистров: проблемы и перспективы развития: тезисы докладов V Всероссийской конференции, Челябинск, 29–30 ноября 2021 года / Челябинский государственный университет. – Челябинск: Челябинский государственный университет. – 2022. – С. 53-56.

11. Головнева, Е.С. Особенности миосателлитоцитов различных групп мышц при тренировках, лазерной терапии и приеме аминокислот / Е.С. Головнева, Р.В. Тахавиев, Г.В. Брюхин // Гены и клетки. – 2022. – Т. 17, № 3. – С. 57-57.

12. Тахавиев, Р.В. Влияние экспозиции инфракрасной и зелёной фотомодуляции на количество активных миосателлитоцитов в регенерирующих мышцах / Р.В. Тахавиев, Е.С. Головнева, Г.В. Брюхин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 176, № 3. – С. 535-540.

13. Тахавиев, Р.В. Влияние зеленой лазерной фотомодуляции на плотность расположения миосателлитоцитов в регенерирующей скелетной мышечной ткани /

Р.В. Тахавиев, Е.С. Головнева, Г.В. Брюхин // Морфологические ведомости. – 2023. – Т. 31, № 4. – С. 34-39.

14. Регенерация скелетной мышечной ткани и её регуляция : монография / Р. В. Тахавиев, Г. В. Брюхин, Е. С. Головнева. – Челябинск : Издательский центр «Титул», 2023. – 236 с. : ил.

15. Миокины в регенеративной медицине и спорте : монография / Р. В. Тахавиев, Г. В. Брюхин. – Челябинск : Издательский центр «Титул», 2023. – 240 с. : ил.

16. Тахавиев, Р.В. Динамика гиперхромных и MyoD-позитивных ядер регенерирующих скелетных мышц при инфракрасной фотомодуляции / Р.В. Тахавиев, Г.В. Брюхин, Е.С. Головнева // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2024. – Т. 13, № 1. – С. 34-41.

17. Тахавиев Р.В., Брюхин Г.В., Головнева Е.С. Модуляция функциональной активности тучных клеток при инфракрасным и зеленым лазерным облучением. «Технологические инновации и научные открытия» сборник научных статей по материалам XV Международной научно-практической конференции. 2024. – 522-525 с.

18. Тахавиев, Р.В. Влияние инфракрасной и зелёной фотобиомодуляции на количество MyoD-положительных клеток в соединительной ткани в очаге повреждения скелетной мышцы в процессе регенерации / Р.В. Тахавиев, Г.В. Брюхин, Е.С. Головнева // Морфология. – 2025. – Т. 163, №1. – С. 29-38.

19. Тахавиев, Р.В. Плотность расположения MyoD– и MyoD+ ядер в мышечных волокнах регенерирующей скелетной мышечной ткани: влияние фотобиомодуляции / Р.В. Тахавиев, Г.В. Брюхин, Е.С. Головнева // Морфология. – 2025. – Т. 163, №2. – С. 123-133.

Подписано в печать
Формат 60 × 84 ¹/₁₆. Усл. Печ. Л. 1,0.
Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman суг.
Печать лазерная. Тираж 150 экз. Заказ № .

Отпечатано в ПЦ «ПРИНТМЕД» (ИП Шарифулин Р.Г.)
454080, г. Челябинск, ул. Энтузиастов, 25а. Тел. +7 351 230-67-37
E-mail: rinmed@mail.ru