

## ФІЗІОЛОГІЯ

УДК 57.05:616-001-003.9-036.1-085.849.19-092.9

Бабенко Н.М. <https://orcid.org/0000-0003-3117-8146>

### ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ УСКЛАДНЕНИХ РАН У ФАЗІ ПРОЛІФЕРАЦІЇ – ПЕРЕХОДУ ПРОЛІФЕРАЦІЇ В ФАЗУ РЕМОДЕЛЮВАННЯ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФОТОБІОМОДУЛЯЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ

© Бабенко Н.М.

*Харківська медична академія післядипломної освіти,*

*Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди*

*natali\_babenko@ukr.net*

*<https://doi.org/10.34142/2708-5848.2021.23.2.08>*

В дослідженні було вивчено вплив фотобіомодуляційної (ФБМ) терапії на регуляцію репаративних процесів ускладнених ран у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. Експерименти проводили на 18 щурах лінії Wistar. Тварини були поділені на три групи – інтактну, контрольну та експериментальну (по 6 щурів у кожній). Для моделювання ускладнених ран використовували тварин контрольної та експериментальної груп. Застосовували ФБМ терапію щурам експериментальної групи. Для цього використовували лазерний пристрій «Ліка-терапевт» у безперервному режимі при довжині хвилі 660 нм, вихідній потужності 50 мВт та щільність енергії 1 Дж/см<sup>2</sup>. Евтаназію тварин проводили на 14 день після індукції ран. Кров для дослідження брали методом відкритої серцевої пункції. Вивчали агрегацію тромбоцитів при концентраціях індуктора агрегації АДФ 5 мкмоль/л та 10 мкмоль/л. Визначали рівні активних форм кисню (АФК), гамма інтерферону (INF-γ) та основного фактору росту фібробластів (bFGF) в сироватці крові тварин методом імуноферментного аналізу. При вивченні впливу ФБМ терапії на функціональну активність тромбоцитів у щурів експериментальної групи спостерігалось достовірне підвищення часу досягнення максимальної швидкості агрегації. Ступінь агрегації та швидкість агрегації тромбоцитів не відрізнялися від відповідних показників тварин контрольної групи, ранові дефекти яких отримували фіктивну терапію. При застосуванні ФБМ терапії виявлено зміни експресії досліджуваних показників у сироватці крові тварин із ускладненими ранами: зниження рівнів АФК і INF-γ та підвищення концентрації bFGF при загоєнні ран у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. Результати дослідження демонструють здатність ФБМ терапії підвищувати ендогенні рівні bFGF, моделювати рівні INF-γ та АФК, а також впливати на агрегаційну активність тромбоцитів, тим самим сприяючи регуляції репаративних процесів ускладнених ран у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. Потрібні подальші дослідження з оптимізації параметрів, що застосовуються в ФБМ терапії при загоєнні ран.

**Ключові слова:** ускладнена рана, фотобіомодуляційна терапія, агрегація тромбоцитів, біоактивні молекули, загоєння ран

Лікування ускладнених ран залишається актуальною проблемою медицини всього світу. Ускладнені, хронічні рани мають приблизно 1-2% населення світу [11]. Ускладнені рани виникають внаслідок порушень процесів, які залежать від багатьох типів клітин і медіаторів, що взаємодіють у складній тимчасовій послідовності. Порушення фізіологічного загоєння відбуваються на одній чи декількох з чотирьох фаз: гемостазу, запалення, проліферації та ремоделювання [18]. Компоненти гемостатичної

та фібринолітичної систем відіграють незамінну роль у процесі загоєння ран. Крім їхнього безпосереднього внеску у формування бар'єрного «згустку» проти крововтрати та патогенів, їхня взаємодія із запальними клітинами закладає основу для антимікробної активності, деградації позаклітинного матриксу, міграції та проліферації кератиноцитів та скорочення ран [15]. Ураження шкіри саме тому, що вони є виразом системного патологічного статусу, спонукають нас використовувати експеримента-

льну модель для перевірки майбутніх методів лікування, заснованих на розумінні тонких молекулярних та клітинних механізмів. Вивчення порушень загоєння ран на стадії запалення та переходу запалення в фазу проліферації – тренд сучасних досліджень. Робіт, що досліджують порушення репаративних процесів у фазі проліферації – переходу фази проліферації в фазу ремоделювання, не багато.

Основна мета проліферативної фази забезпечити захист поверхні рани за рахунок утворення грануляційної тканини та нового епітеліального покриву, а також відновити судинну мережу для живлення нових тканин. Грануляційна тканина – це сполучна тканина з високим вмістом судин, яка необхідна на заключних етапах загоєння, дозрівання та ремоделювання ран [10]. Процес загоєння ран контролюється діями цитокінів і факторів росту. Активні форми кисню (АФК) також важливі у фазі проліферації. Вони сприяють проліферації та міграції фібробластів та опосередковують передачу сигналів трансформуючого фактору росту- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), що призводить до міграції, продукції колагену і фібронектину та експресії основного фактору росту фібробластів (bFGF) [8].

Фаза ремоделювання залежить від механізмів, запущених на ранніх етапах. Під час фази ремоделювання відбувається зменшення грануляційної тканини, заміщення тимчасового позаклітинного матриксу та апоптоз тимчасових клітин, які мігрували до цієї області. Під час фази дозрівання колаген 1 типу замінює колаген 3 типу, виявлений у грануляційній тканині, і утворюється рубець. TGF- $\beta 1$  стимулює фібробласти до диференціювання в міофібробласти, набуваючи скорочувального фенотипу і зменшуючи площу рани за рахунок множинних точок з'єднання білків міофібробластів з колагеновими волокнами [13].

Важливим завданням в лікуванні ран є пошук ефективних методів впливу на репаративний процес та маркерів, що пророкують хронізацію процесу. Фотобіомодуляційна (ФБМ) терапія є одним з новітніх ме-

тодів, що демонструє багатообіцяючі результати. Це форма світлотерапії, в якій використовуються неіонізуючі форми джерел світла, включаючи лазери, світлодіоди та широкосмугове світло у видимому та інфрачервоному спектрі [2]. ФБМ терапія може сприяти зменшенню експресії запальних клітин, проліферації клітин, стимуляції синтезу колагену, ангіогенезу та грануляції [17]. Механізми, що лежать в основі фотобіомодуляції, досі не вивчені.

Мета нашого дослідження: вивчення особливостей регуляції репаративного процесу ускладнених ран (на прикладі агрегаційної активності тромбоцитів, активних форм кисню, гамма інтерферону (INF- $\gamma$ ) та основного фактору росту фібробластів) на стадії проліферації – переходу проліферації в стадію ремоделювання при використанні ФБМ терапії.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на 18 щурах лінії Wistar масою  $250 \pm 30$  г віком 8–9 місяців. Усі експерименти на тваринах проводилися згідно з біоетичними принципами відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей та схвалені Комітетом з біоетики ХМАПО (протокол № 2 від 26 червня 2020 р.).

Щури були поділені на 3 групи: перша група представлена інтактними тваринами; друга – тваринами контрольної групи; третя – тваринами експериментальної групи. Тваринам контрольної та експериментальної груп були індуковані ускладнені рани. Після депіляції шерсті видалявся клапоть шкіри діаметром 2 см у проксимальному відділі спини щура. Потім по краях рани накладали перпендикулярний петлевидний шкірно-фасціальний шов. На поверхні дна рани розсікали поверхневу фасцію перпендикулярними розрізами з утворенням осередків розмірами  $5 \times 5$  мм, які вшивали П-подібними швами [22]. Індукція ран проходила при загальній анестезії, яка здійснювалась внутрішньом'язовим введенням розчину золетилу (тілетаміну гідрохлорид та

золазепаму гідрохлорид) (Virbac, Франція) з розрахунку 10 мг/кг маси тіла.

До ран тварин експериментальної групи через 24 години після індукції застосовували ФБМ терапію. Використовували лазерний апарат «Ліка-терапевт М» (Черкаси,

Україна). Терапію проводили один раз на добу протягом 5 днів. Лазерну рукоятку тримали перпендикулярно поверхні рани так, щоб була опромінена вся площа рани. Параметри ФБМ терапії, приведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Параметри ФБМ терапії

Довжина хвилі, нм	Режим	Потужність, мW	Площа плями, см <sup>2</sup>	Час, сек	Щільність енергії, J/cm <sup>2</sup>
660	безперервний	50	3.14	62.8	1.0

Тварини контрольної групи піддавалися таким же маніпуляціям, що і тварини експериментальної групи, але з вимкненим лазерним приладом.

Евтаназія щурів була проведена шляхом вдихання хлороформу в замкнутому просторі через 14 діб після моделювання ран. Кров для дослідження брали методом відкритої серцевої пункції.

### Визначення функціональної активності тромбоцитів

Індукована агрегація тромбоцитів досліджувалась у багатій на тромбоцити плазмі турбідиметричним методом із застосуванням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR 2110» (Біло-русь). В якості стабілізатора крові використовували цитрат натрію (3.2%) у співвідношенні 9:1. Як індуктор використовували аденозиндифосфат (АДФ) «Технологія-Стандарт» (Росія) в концентраціях 5 і 10 мкмоль/л. Запис агрегатограм проводився при 37°C протягом 10 хвилин. Подальший аналіз агрегаційної кривої включав визначення наступних показників: 1) ступеня агрегації – максимального % світлопропускання плазми; 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації – часу досягнення максимального % світлопропускання; 3) швидкості агрегації, що розраховується через 30 секунд після початку агрегації тромбоцитів, та оцінку форми агрегатограм

### Дослідження концентрацій біоактивних молекул

Дослідження рівнів АФК та bFGF проводилося методом імуноферментного аналізу у сироватці крові згідно з інструкціями до наборів виробника eBioscience (США).

Для визначення рівнів INF-γ в сироватці крові тварин використовували набір Вектор-Бест (Росія) для імуноферментного аналізу. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.0. Для кожного показника були розраховані  $M \pm SE$ , де  $M$  – середнє арифметичне;  $SE$  – стандартна помилка середнього арифметичного. Достовірність відмінностей між групами (статистичну значущість) визначали використовуючи непараметричний критерій Краскела–Уолліса для незалежних вибірок. Статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ

При вивченні впливу ФБМ терапії на функціональну активність тромбоцитів у щурів з ранами при концентраціях індуктора агрегації АДФ 5 мкмоль/л та 10 мкмоль/л на 14-й день після моделювання ран (експериментальна група) спостерігалось достовірне підвищення часу досягнення максимальної швидкості агрегації (табл. 2, табл. 3.). При цьому ступень агрегації та швидкість агрегації тромбоцитів не відрізнявся від відповідних показників тварин, ранові дефекти яких не отримували ФБМ терапію (контрольна група).

Таблиця 2

**Показники функціональної активності тромбоцитів при концентрації АДФ 5 мкмоль/л у тварин усіх груп на 14 день експерименту при застосуванні в експериментальній групі ФБМ терапії (М ± SE)**

Групи тварин	Показники агрегаційної активності тромбоцитів при концентрації АДФ 5 мкмоль/л		
	Ступінь агрегації, %	Час агрегації, с	Швидкість агрегації за 30 с, %/хв
Інтактні	63.07 ± 8.06	121.55 ± 6.95	87.11 ± 9.24
Контрольна	43.18 ± 4.46	86.75 ± 6.07	77.25 ± 3.59
Експериментальна	53.38 ± 9.54	136.67 ± 9.01*	76.20 ± 12.21

\*  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою

Таблиця 3

**Показники функціональної активності тромбоцитів при концентрації АДФ 10 мкмоль/л у тварин усіх груп на 14 день експерименту при застосуванні в експериментальній групі ФБМ терапії (М ± SE)**

Групи тварин	Показники агрегаційної активності тромбоцитів при концентрації АДФ 10 мкмоль/л		
	Ступінь агрегації, %	Час агрегації, с	Швидкість агрегації за 30 с, %/хв
Інтактні	75.61 ± 6.40	176.63 ± 10.70	95.78 ± 7.71
Контрольна	60.40 ± 3.98	125.75 ± 10.63	89.45 ± 4.83
Експериментальна	58.80 ± 5.69	198.67 ± 13.58*	68.47 ± 8.48

\*  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою

Форми кривих агрегації (однофазна оборотна агрегація) не відрізнялися в інтактній, контрольній та експериментальній групах

при відповідних концентраціях індуктора на 14 день загоєння ран (рис. 1).

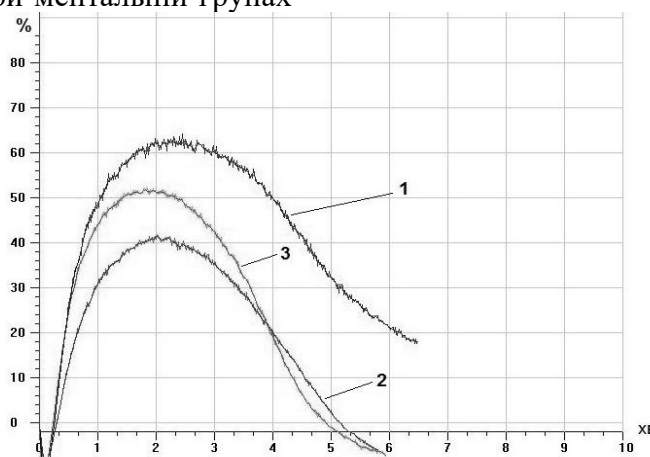


Рис. 1. Приклад кривих агрегації тварин на 14-й день після індукції ран при концентрації АДФ 5 мкмоль/л (1 – інтактні тварини, 2 – контрольна група, 3 – експериментальна група).

Рівні біоактивних молекул в сироватці крові щурів усіх груп на 14 день експерименту представлені в таблиці 4.

Таблиця 4

**Концентрації біоактивних молекул в сироватці крові щурів усіх груп на 14 день експерименту ( $M \pm SE$ )**

Групи тварин	Концентрації біоактивних молекул, пг/мл		
	IFN- $\gamma$	АФК	bFGF
Інтактні	127.292 $\pm$ 5.257	28.648 $\pm$ 2.817	782.126 $\pm$ 57.017
Контрольна	143.056 $\pm$ 15.017	27.851 $\pm$ 2.163	699.016 $\pm$ 49.810
Експериментальна	66.875 $\pm$ 1.300*	17.360 $\pm$ 0.250*	1010.695 $\pm$ 75.746*

\* – порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ )

Використання ФБМ терапії при загоєнні ран продемонструвало: зниження концентрацій IFN- $\gamma$  та АФК в сироватці крові тварин через 14 днів після індукції ран ( $p < 0,05$ ) та підвищення рівнів bFGF в сироватці крові щурів через 14 днів після моделювання ран ( $p < 0,05$ ).

## ОБГОВОРЕННЯ

Є думка, що порушення регуляції у фазі проліферації лежить в основі патофізіології хронічних ранових та фіброзних захворювань [20]. Тому, в роботі продемонстровано вплив ФБМ на загоєння індукованих ускладнених ран саме на стадії проліферації з подальшим переходом до фази ремоделювання.

Параметри випромінювання були вибрані на основі даних літератури. Застосування ФБМ терапії довжиною хвилі 658 нм, щільності енергії 4 Дж/см<sup>2</sup> та потужності 50 мВт показала ефективне загоєння пролежнів на відміну від використання хвиль 990 нм та 808 нм [19]. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання довжиною хвилі 660 нм, щільності енергії 4 Дж/см<sup>2</sup> та потужності 40 мВт на рановий дефект розміром 2 см<sup>2</sup> покращувало загоєння ран на 14 день після індукції ран за рахунок посилення неоклагенезу, неоангіогенезу та модулювання експресії матриксної металопротеїнази 2 [4]. Показано, що оптимальна терапевтична доза при використанні лазерної терапії у відкритій рані становить від 0,5 Дж/см<sup>2</sup> до 1 Дж/см<sup>2</sup> [21].

Відомо, що тромбоцити сприяють регенерації та ремоделюванню тканин після пошкодження у різних органах [5]. Застосування ФБМ терапії у дослідженні демонструє підвищення часу досягнення максимальної швидкості агрегації на 14 день від моменту моделювання ран, в той час як ступінь та час досягнення максимальної швидкості агрегації у тварин експериментальної групи не мали достовірних відмінностей проти відповідних показників у щурів контрольної групи. Нормалізація показників функціональної активності тромбоцитів обумовлена, можливо, зменшенням запалення у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання та протизапальними властивостями низькоінтенсивного лазерного випромінювання [14]. Раніше було показано збільшення ступеня, швидкості та часу досягнення максимальної швидкості агрегації на 7 день після моделювання ран [3].

Функція тромбоцитів регулюється АФК [7]. У дослідженні спостерігалось зниження рівнів АФК при ФБМ терапії у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. Відомо, що АФК стимулюють клітинну проліферацію на низьких рівнях, але пригнічують проліферацію та вбивають клітини на високих рівнях. Використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання призводить до збільшення продукції АТФ, модуляції активних форм кисню та індукції факторів транскрипції [6].

В роботі продемонстровано, що використання ФБМ терапії призвело до зниження рівнів прозапального цитокіну IFN- $\gamma$  в сироватці крові тварин з ускладненими ранами через 14 днів після індукції ран. Ймовірно, цей результат обумовлений протизапальною дією низькоінтенсивного лазерного випромінювання. Роль IFN- $\gamma$  у загоєнні ран, особливо у проліферативній фазі, залишається маловивченою. Показано, що дефіцит IFN- $\gamma$  прискорював процес загоєння ран [9]. В іншому дослідженні продемонстровано відстрочене загоєння ран у мишей з дефіцитом IFN- $\gamma$  порівняно з мишами дикого типу у проліферативній фазі [12].

Важливу роль у загоєнні ран відіграють фактори росту, зокрема основний фактор росту фібробластів. bFGF є хемотаксичним та мітогенним фактором для фібробластів, ендотеліальних клітин та інших мезенхімальних клітин, які є стимулом для ангиогенезу. Крім того, bFGF стимулює скорочення рани, епітелізацію та вироблення колагену, фібронектину та протеогліканів [16]. У роботі використання ФБМ терапії, що впливає на сигнальні шляхи і молекули, необхідні для відновлення тканин, призводить до збільшення рівнів bFGF у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. В даний час досліджується для

застосування у загоєнні ран рекомбінантний фактор росту – фактор росту фібробластів (FGF). В роботі Allameh M. з співавторами було показано, що як введення bFGF, так і лазерне лікування значно зменшувало запалення на заключному етапі загоєння ран слизової оболонки щурів. Грануляційна тканина, індукована bFGF, була більш васкуляризованою; і навпаки, лазерне лікування викликало дозрівання грануляційної тканини, заповнене пучками колагену [1].

## ПІДСУМОК

Результати нашого дослідження демонструють здатність ФБМ терапії підвищувати ендогенні рівні bFGF, моделювати рівні INF- $\gamma$  та АФК, а також впливати на агрегаційну активність тромбоцитів, тим самим сприяючи репараційним процесам при загоєнні ускладнених ран у фазі проліферації – переходу проліферації в фазу ремоделювання. Потрібні подальші дослідження з оптимізації параметрів, що застосовуються в ФБМ терапії при загоєнні ран.

## Фінансування

Дане дослідження фінансувалося Міністерством охорони здоров'я України з державного бюджету

## Література

1. Allameh M., Khaledi S., Khozeimeh F., Faghihian E. (2018) Comparative Evaluation of the Efficacy of Laser Therapy and Fibroblastic Growth Factor Injection on Mucosal Wound Healing in Rat Experimental Model. *Journal of lasers in medical sciences* 9(3): 194–199. doi:10.15171/jlms.2018.35
2. Anders J.J., Lanzafame R.J., Arany P.R. (2015) Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomedicine and laser surgery* 33(4): 183–184. doi: 10.1089/pho.2015.9848
3. Babenko N., Pavlov S. (2021) Effects of Low-Level Laser Therapy on Reactive Oxygen Species, Platelet Aggregation Activity, and the Expression of Growth Factors in the Process of Regeneration of Chronic Wounds. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 25(4): 2226–2234.
4. de Medeiros M.L., Araújo-Filho I., da Silva E.M., de Sousa Queiroz W.S., Soares C.D., de Carvalho M.G., Maciel M.A. (2017) Effect of low-level laser therapy on angiogenesis and matrix metalloproteinase-2 immunoexpression in wound repair. *Lasers in Medical Science* 32(1): 35–43. doi: 10.1007/s10103-016-2080-y
5. Eisinger F., Patzelt J., Langer H.F. (2018) The Platelet Response to Tissue Injury. *Frontiers in Medicine* 5: 317. doi: 10.3389/fmed.2018.00317
6. Farivar S., Malekshahabi T., Shiari R. (2014) Biological effects of low level laser therapy. *Journal of lasers in medical sciences* 5(2): 58–62.
7. Gutmann, C., Siow, R., Gwozdz, A. M., Saha, P., Smith, A. (2020) Reactive Oxygen Species in Venous Thrombosis. *International journal of molecular sciences* 21(6): 1918. doi: 10.3390/ijms21061918
8. Hoffmann M.H., Griffiths H.R. (2018) The dual role of ROS in autoimmune and inflammatory diseases: Evidence from preclinical models. *Free Radical Biology and Medicine* 125: 62–71. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.016
9. Ishida Y., Kondo T., Takayasu T., Iwakura Y., Mukaida N. (2004) The essential involvement of cross-talk between IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in the skin wound-

healing process. *The Journal of Immunology* 172: 1848–1855. doi: 10.4049/jimmunol.172.3.1848

10. Janis J.E., Harrison B. (2016) Wound Healing: Part I. Basic Science. *Plastic and Reconstructive Surgery* 138(3 Suppl): 9S–17S. doi: 10.1097/PRS.0000000000002773

11. Jere S.W., Abrahamse H., Hourelid N.N. (2017) The JAK/STAT signaling pathway and photobiomodulation in chronic wound healing. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 38: 73–79. doi: 10.1016/j.cytogfr.2017.10.001

12. Kanno E., Tanno H., Masaki A., Sasaki A., Sato N., Goto M., Shisai M., Yamaguchi K., Takagi N., Shoji M., Kitai Y., Sato K., Kasamatsu J., Ishii K., Miyasaka T., Kawakami K., Imai Y., Iwakura Y., Maruyama R., Tachi M., Kawakami K. (2019) Defect of Interferon  $\gamma$  Leads to Impaired Wound Healing through Prolonged Neutrophilic Inflammatory Response and Enhanced MMP-2 Activation. *International Journal of Molecular Sciences* 20(22): 5657. doi: 10.3390/ijms20225657

13. Karpinen S.M., Heljasvaara R., Gullberg D., Tasanen K., Pihlajaniemi T. (2019) Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring. *F1000Research* 8(F1000 Faculty Rev): 787. doi: 10.12688/f1000research.18293.1

14. Murugan M., Regan R., Arumugam A. (2021) Effectiveness of low-level laser therapy compared with other conventional therapies on wound healing and pain reduction in patients with median sternotomy: a systematic review protocol. *JBIC Evidence Synthesis* 19(11): 3121–3128. doi: 10.11124/JBIES-20-00428

15. Opneja A., Kapoor S., Stavrou E.X. (2019) Contribution of platelets, the coagulation and fibrinolytic systems to cutaneous wound healing. *Thrombosis Research* 179: 56–63. doi:10.1016/j.thromres.2019.05.001

16. Qing C. (2017) The molecular biology in wound healing & non-healing wound. *Chinese Journal of Traumatology* 20(4): 189–193. doi:10.1016/j.cjtee.2017.06.00

17. Ramos R.M., Burland M., Silva J.B., Burman L.M., Gelain M.S., Debom L.M., Bec J.M., Alirezai M., Uebel C.O., Valmier J. (2019) Photobiomodulation Improved the First Stages of Wound Healing Process After Abdominoplasty: An Experimental, Double-Blinded, Non-randomized Clinical Trial. *Aesthetic Plastic Surgery* 43(1): 147–154. doi: 10.1007/s00266-018-1271-2

18. Sorg H., Tilkorn D.J., Hager S., Hauser J., Mirastschijski U. (2017) Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *European Surgical Research* 58(1–2): 81–94. doi: 10.1159/000454919

19. Taradaj J., Halski T., Kucharzewski M., Urbanek T., Halska U., Kucio C. (2013) Effect of Laser Irradiation at Different Wavelengths (940, 808, and 658 nm) on Pressure Ulcer Healing: Results from a Clinical Study. *Evidence-based complementary and alternative medicine eCAM* 2013: 960240. doi: 10.1155/2013/960240

20. Thiruvoth F.M., Mohapatra D.P., Kumar D., Chittoria S.R.K., Nandhagopal V. (2015) Current concepts in the physiology of adult wound healing. *Plastic and Aesthetic Research* 2: 250–256. doi: 10.4103/2347-9264.158851

21. Tunér J., Hode L. (2002) *Laser Therapy – Clinical Practice and Scientific Background*. Grangesberg: Prima Books.

22. Zinatullin, R.M., Gizatullin, T.R., Pavlov, V.N., Kataev, V.A., Farhutdinov, R.R., Bajmurzina, Ju.L., Khatmullina K.R., Mochalov K.S., Petrova I.V., Zijatdinov R.R. (2014) Method for simulating trophic wound in experiment. RF patent No. 2510083 C1. Ufa, Russia. Federal Service for Intellectual Property (Rospatent).

UDS 57.05:616-001-003.9-036.1-085.849.19-092.9

**FEATURES OF THE REGULATION OF REPARATIVE PROCESSES COMPLICATED WOUNDS IN THE PHASE OF PROLIFERATION – THE TRANSITION OF PROLIFERATION TO THE REMODELING PHASE WHEN USING PHOTOBIOMODULATION THERAPY**

Babenko N.M.

We have studied the effect of photobiomodulation (PBM) therapy on the regulation of reparative processes in complicated wounds at the proliferation phase, namely the transition of proliferation to the remodeling phase. The experiments were carried out on 18 Wistar rats. Animals were divided into three groups: intact, control, and experimental (6 rats in each). To model complicated wounds, control and experimental groups of animals were used. PBM therapy was applied to rats of the experimental group. To do this, the laser device “Lika-therapist” was used in continuous mode at a wavelength of 660 nm, an output power of 50 mW, and an energy density of 1 J/cm<sup>2</sup>. Animals were euthanized on day 14 after wound induction. Blood for the study was taken by open cardiac puncture. Platelet aggregation was studied at ADP inductor concentrations of 5 μmol/L and 10 μmol/L. The levels of reactive oxygen species (ROS), gamma interferon (INF-γ), and basic fibroblast growth factor (bFGF) in the blood serum of animals were determined by enzyme immunoassay. When studying the effect of PBM therapy on the functional activity of platelets in rats of the experimental group, a significant increase in the time to reach the maximum aggregation rate was observed. The degree of aggregation and the rate of platelet aggregation did not differ from the corresponding indicators of animals in the control group, whose wound defects received sham therapy. When using PBM therapy, changes in the expression of the studied parameters in the blood serum of animals with complicated wounds were revealed: a decrease in the level of ROS and INF-γ and an increase in the concentration of bFGF during wound healing in the phase of proliferation, i.e. the transition of proliferation to the remodeling phase. The results of the study demonstrate the ability of PBM therapy to increase endogenous levels of bFGF, to model the levels of INF-γ and ROS, and to affect the platelet aggregation activity, thereby contributing to the regulation of reparative processes in complicated wounds at the phase of proliferation, i.e. the transition of proliferation to the remodeling phase. Further research is required to optimize the parameters used in PBM therapy for wound healing.

**Keywords:** *complicated wound, photobiomodulation therapy, platelet aggregation, bioactive molecules, wound healing*