

На правах рукописи

Рейдман Виталина Ринатовна

**Влияние среднеинтенсивного лазерного облучения зон
локализации красного костного мозга на репарацию поврежденного
миокарда.**

диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских
наук

14.03.03 -патологическая физиология

Научный руководитель:

д.м.н. Головнева Елена Станиславовна

Челябинск 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1 Физиологические основы лазерной терапии в кардиологии.....	12
1.2 Влияние лазерного излучения на костный мозг.....	17
1.3 Тучные клетки в регуляции репарации и микроциркуляции.....	19
1.4 Клеточная терапия заболеваний сердца.....	26
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1. Материалы исследования.....	32
2.1.1. Экспериментальный раздел.....	32
2.1.2. Клинический раздел.....	33
2.2. Моделирование локального очага повреждения миокарда крыс.....	34
2.3. Моделирование диффузных ишемических изменений миокарда крыс.....	35
2.4 Лазерное воздействие на зоны локализации красного костного мозга.....	35
2.5 Морфологические и морфометрические методы исследования миокарда.....	36
2.6 Морфофункциональная оценка сосудистого русла.....	37
2.7 Оценка желатиназной активности (зимография матриксных металлопротеиназ в агарозном геле с внедренным субстратом)	38
2.8 Оценка показателей периферической крови	39

2.9	Определение содержания CD 34 ⁺ клеток периферической крови человека методом проточной цитометрии.....	40
2.10	Методы статистической обработки результатов.....	40
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....		41
3.1	Изменения в поврежденном миокарде после лазерного облучения зон локализации костного мозга.....	41
3.2	Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда на лазерное облучение зон локализации костного мозга.....	51
3.2.1	Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда через 1 сутки после лазерного воздействия.....	51
3.2.2	Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда через 10 суток после лазерного воздействия.....	58
3.3	Динамика показателей лазерной доплер-флуометрии миокарда после лазерного воздействия на красный костный мозг.....	65
3.4	Реакция тучных клеток миокарда на лазерное системное облучение красного костного мозга.....	71
3.4.1.	Реакция тучных клеток миокарда через 1 сутки после лазерного облучения.....	71
3.4.2.	Реакция тучных клеток миокарда через 10 суток после окончания лазерного облучения.....	75
3.5.	Динамика экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) в миокарде после лазерного воздействия на красный костный мозг.....	82
3.6.	Динамика активности матриксных металлопротеиназ в миокарде после лазерного воздействия на красный костный мозг.....	87

3.7. Динамика содержания CD34 ⁺ /45 ⁺ клеток в пробах периферической крови больных с инфарктом миокарда после лазерного облучения зон локализации красного костного мозга.....	91
3.8 Динамика некоторых показателей периферической крови у крыс с локальным повреждением миокарда после лазерного воздействия на красный костный мозг.....	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	101
ВЫВОДЫ.....	104
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	106

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВИЛИ – высокоинтенсивное лазерное излучение

НИЛИ- низкоинтенсивное лазерное излучение

ОИМ – острый инфаркт миокарда

СК - стволовые клетки

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Г-КСФ - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

МСК – мезенхимальные стволовые клетки

КМ – костный мозг

ТК – тучные клетки

ИК – инфракрасный

ИЛ - интерлейкин

ГМ-КСФ- гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ФНО- фактор некроза опухоли

ФРСЭ (VEGF) – фактор роста сосудистого эндотелия

ФРФ (FGF) - фактор роста фибробластов

ЭПО- эритропоэтин

СО₂-лазер – углекислотный лазер.

ФРГ (HGF) - фактор роста гепатоцитов

Nd:YAG-лазер – неодимовый лазер, лазер на алюмоиттриевом гранате с неодимом

ВЛОК- внутривенное лазерное облучение крови

ЦСК- циркулирующие стволовые клетки

ГОФПК – окраска гематоксилин -основной фуксин –пикриновая кислота

ИД – индекс дегрануляции

ЛДФ- лазерная доплер флуометрия

ММП – матриксные металлопротеиназы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

В России, как и во всех развитых странах мира, первое место среди причин смертности занимают сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). По оценкам ВОЗ от ССЗ умирает 17,5 миллиона человек ежегодно, что составляет 30% всех случаев смерти в мире [Global status report on noncommunicable diseases 2014, WHO, 2014; Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними. Под ред.: Mendis S, Puska P, Norrving B., 2013].

В последнее десятилетие в кардиологии при инфаркте миокарда, хронической сердечной недостаточности, кардиомиопатии и других тяжелых поражениях сердца успешно начато применение методов кардиомиопластики с использованием различных популяций стволовых клеток (СК) [Повещенко О.В. и др., 2014; Fischer-Rasokat U. et al., 2009; Vrtovec B. et al., 2013]. Один из важных источников СК - кровь человека. В циркулирующих стволовых клетках (ЦСК) в настоящее время выявлено более 30 цитокинов и факторов роста, паракринно влияющих на восстановление поврежденных тканей и заживление ран, ингибирующих апоптоз, являющихся хемоаттрактантами для других СК и стимулирующих пролиферацию эндотелиальных клеток [Majka M. et al., 2001; Mintz P.G. et al., 2014]. Показано, что при ишемических синдромах и тяжелых повреждениях тканей наблюдается дефицит ЦСК, усугубляющийся в процессе старения организма [Шурыгин М.Г. и др., 2014; Haddad F. et al., 2015].

Одним из направлений повышения концентрации ЦСК, является использование различных физических и биологических воздействий стимулирующих их выход из костного мозга в периферическую кровь. Установлено, что воздействие среднеинтенсивного лазерного излучения в инфракрасном и красном диапазоне длин волн на кроветворные

органы способствует выходу циркулирующих стволовых клеток из костного мозга в периферическое кровяное русло, где их содержание увеличивается в 6-10 раз. На основании этого был разработан и успешно апробирован в клинике способ лечения критической ишемии конечностей [Головнева Е.С. и др., 2004, 2012]. Очевидно, что повышение концентрации ЦСК может быть использовано для активации разнообразных восстановительных процессов в организме. Остается неизученным воздействие среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на стимуляцию репарации и микроциркуляции в поврежденном миокарде. Не проводилось сравнительной оценки эффективности репарации миокарда после воздействия лазеров, генерирующих излучение в инфракрасной и красной областях спектра.

Цель исследования

Изучить влияние среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на репарацию поврежденного миокарда крыс.

Задачи исследования

1. Оценить динамику зон ишемии кардиомиоцитов и сформировавшейся соединительной ткани в миокарде с диффузным и очаговым повреждением после среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг.
2. Изучить морфофункциональные особенности микроциркуляции в поврежденном миокарде после среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг.
3. Изучить морфофункциональные характеристики тучных клеток в поврежденном миокарде после среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг.
4. Определить особенности экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия в поврежденном миокарде после среднеинтенсивного

лазерного воздействия на красный костный мозг.

5. Определить особенности активности желатиназ в поврежденном миокарде после среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг.

6. Провести сравнение репарации миокарда при использовании для облучения зон локализации костного мозга лазеров с длиной волны 980 и 670 нм.

7. Определить динамику содержания CD34⁺/45⁺ клеток и некоторых показателей периферической крови после среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации костного мозга.

Научная новизна

Впервые в эксперименте показана возможность стимуляции репаративных процессов в поврежденном миокарде животных после среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг. Наблюдаемая нормализация микроциркуляции в поврежденном миокарде происходит на фоне активации тучных клеток, повышения экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия и активности желатиназ, что сопровождается увеличением относительной площади сосудистого русла, снижением индекса Керногана артериальных сосудов, нормализацией микроциркуляции, уменьшением площади зон ишемии кардиомиоцитов и сформированной соединительной ткани по сравнению с животными без воздействия лазера на костный мозг. Впервые показано, что использование длин волн лазерного воздействия 670 и 980 нм вызывает сходные репаративные изменения в миокарде после облучения зон локализации красного костного мозга. Установлено повышение содержания эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов в периферической крови животных с повреждением миокарда после лазерного воздействия на красный костный мозг. Впервые описано повышение содержания CD34⁺/45⁺ клеток в периферической крови у больных с инфарктом миокарда после

лазерного облучения красного костного мозга.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования расширяют представления об эффектах лазерного воздействия на красный костный мозг и влиянии повышения концентрации циркулирующих стволовых клеток в крови на процессы репарации в поврежденном миокарде, что проявляется в уменьшении площади ишемических, некротических изменений и коллагеновых волокон соединительной ткани. Восстановлению микроциркуляции в миокарде способствует активация тучных клеток, повышение экспрессии факторов роста, ферментной активности в миокарде, увеличение содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и стволовых клеток в периферической крови. Эти изменения в совокупности приводят к нормализации сосудистого тонуса, увеличению площади сосудистого русла в миокарде и улучшению кислородтранспортных функций крови. На основании полученных данных возможна разработка неинвазивных методов лечения инфаркта миокарда и ишемических синдромов в кардиологической практике.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр нормальной физиологии, патологической физиологии ГБОУ ВПО "Южно-Уральского медицинского университета" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Положения, выносимые на защиту.

1. Среднеинтенсивное лазерное воздействие на зоны локализации красного костного мозга приводит в поврежденном миокарде к уменьшению площади ишемических изменений, уменьшению площади коллагеновых волокон соединительной ткани, улучшению микроциркуляции и увеличению площади сосудистого русла на фоне повышения функциональной активности тучных клеток, экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия и активности желатиназы.

2.Выраженность репаративных изменений, наблюдаемых в миокарде после среднеинтенсивного лазерного воздействия на зоны локализации красного костного мозга, не отличается при использовании длины волны 670 и 980 нм.

3.Среднеинтенсивное лазерное облучение зон локализации красного костного мозга у животных с повреждением миокарда вызывает в периферической крови повышение содержания эритроцитов, лейкоцитов, уровня гемоглобина, у больных с инфарктом миокарда после лазерного облучения в крови отмечается повышение содержания CD 34⁺/45⁺ клеток.

Личный вклад автора

Основная идея, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, формулирование целей и задач, разработка дизайна исследования проведены совместно с научным руководителем Головневой Еленой Станиславовной, доктором медицинских наук, профессором кафедры Нормальной физиологии ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России. Моделирование и терапевтическое воздействие лазером на лабораторных животных, морфологические, морфометрические, биохимические исследования и оценка микроциркуляции выполнены при участии сотрудников ГБУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии». Исследование периферической крови на проточном цитометре проводилось совместно с сотрудниками ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница».

Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, статистическая обработка первичных данных, интерпретация и анализ полученных результатов, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на всероссийских

конференциях осуществлялись соискателем лично.

Соответствие паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 2, 8 и 10 паспорта специальности.

Апробация работы.

Основные положения работы представлены на V Всероссийской конференции, посвященной 100-летию со дня рождения В.Н. Черниговского «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2007), Всероссийской конференции "Научное наследие акад. Л.А.Орбели. Структурные и функциональные основы эволюции функций, физиология экстремальных состояний" (Санкт-Петербург, 2008), I международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2010), Российском научном форуме на Урале с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной медицины» (Екатеринбург, 2014), I и II Национальном конгрессе по регенеративной медицине, (Москва, 2013, 2015).

Публикации

Соискатель имеет 12 опубликованных работ по теме диссертации, из них 6 публикаций в научных журналах (4 статьи, 1 обзорная статья, 1 тезисы конференции), которые включены в перечень ВАК российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы собственных исследований и обсуждения результатов, заключения, выводов. Библиографический список включает 323 источника: 113 на русском языке, 210 иностранных. Работа содержит 35 таблиц, 5 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Физиологические основы лазерной терапии в кардиологии

Стимулирующее действие низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические объекты было открыто вскоре после изобретения лазера в середине прошлого века. Эти открытия привели к созданию нового направления в медицине – лазерной терапии [Chung H., 2012; Москвин С.В., 2014; Karu T., 2013]. В настоящее время лазерная терапия применяется для лечения широкого спектра острых и хронических заболеваний: для снятия боли, отеков и воспаления [Aoki A. et al., 2008; Alves A.N. et al., 2014; Yousefi-Nooraie R. et al., 2007; Uemoto L. et al., 2013], ускорения заживления после хирургических операций [Гавриленко А.В., Мусаев М.М., 2011; Кукольникова Е.Л., Жуков Б.Н., 2011; Черниховская Н.Е. и др., 2013; Jin R. et al., 2013]. Эффективность лазерной терапии во многих областях доказана рандомизированными испытаниями с плацебо-контролем и путем метаанализа клинических данных [Yousefi-Nooraie R. et al., 2008; Chow R.T. et al., 2009; Bjordal J.M. et al., 2011; Pereira T.S. et al., 2014; He W.L. et al., 2014].

Однако механизмы процессов, происходящих в организме при лазерном воздействии, до сих пор остаются неясными. Лазерное излучение в отличие от других источников света является монохроматичным, когерентным и сильно поляризованным [Плетнев С.Д., 1996]. Когерентность и поляризация лазерного света не проявляются при взаимодействии лазерного излучения с монослоями клеток или тонкими слоями ткани. Однако за счет интерференции когерентного излучения достигается пространственная неоднородность доставки световой энергии, что может вызывать дополнительный терапевтический эффект в глубоких слоях ткани. [Кару Т.Й., 2005; Karu T.I., 2003].

В качестве первичных акцепторов лазерного излучения исследователями рассматриваются несколько веществ с разным спектром поглощения, каждое из которых может запускать каскады событий на клеточном уровне. Это может быть молекулярный кислород, растворенный в водной фазе, на роль которого указывают С.Д. Захаров и соавторы, изучившие его роль в опытах по определению реакции мембраны эритроцитов на облучение лазерами с различными длинами волн [Захаров, С.Д. и др., 2003; Захаров, С.Д., Иванов А.В., 2006]. Еще одним универсальным акцептором лазерного излучения может служить дыхательный фермент цитохром-с-оксидаза, терминальный фермент дыхательной цепи, содержащийся в митохондриях большинства клеток. С его спектром поглощения совпадают максимумы фотоактивации клеточных процессов на длинах волн 620, 680, 760 и 820 нм, что было показано в многочисленных работах Т.Й. Кару с соавторами [Кару Т.Й., 2005; Karu T.I. et.al., 2003; 2005(a,b); 2010] . Эндогенные порфирины, содержащиеся в клетках крови, могут служить акцептором лазерного излучения в красной области спектра [Клебанов Г.И., 2000, 2003; Мачнева Т. с соавт 2012; Mi X.Q., 2006]. Вполне вероятно, что общий механизм воздействия лазерного излучения – локальный перегрев клеточных структур за счет поглощения лазерного излучения любыми подходящими хромофорами. Это приводит к разжижению цитоплазмы вследствие локального повышения температуры (переход из состояния цитогеля в цитозоль), повышению концентрации внутриклеточного кальция и запуску широкого спектра кальций-зависимых процессов, которые и определяют стимулирующее действие лазерного облучения [Загускин С.Л., 2005; Москвин С.В., 2014].

В результате запуска каскада внутриклеточных реакций, в ответ на воздействие лазерного излучения наблюдается повышение устойчивости клеток к апоптозу [Snyder S.K. 2002; Shefer G., 2002; Park I.S., Chung P.S., Ahn J.C., 2014], деконденсация хроматина и активация

процессов транскрипции [Бугаева И.О., 2006], усиление пролиферации [Pereira A.N. et al., 2002; Kreisler M. 2002; Hawkins D., 2007; Hou J.F. et al., 2008; Barboza C.A., 2014; Lan C.C. 2009; Soleimani M. et al., 2012], способности клеток к миграции и адгезии [Khadra M. 2005], выделение активных форм кислорода [Fujimaki Y. et al., 2003; Beckmann KH, et al., 2014; Migliario M et al., 2014] и оксида азота [Клебанов Г.И. с соавт., 2003; Черток В.М. с соавт 2007; Горшкова О.П., 2013; Нечипуренко Н.И., 2008; Lindgård A. et al., 2007], увеличение активности ферментов [Владимиров Ю. с соавт., 2004; Као М.Ж., Sheen L.Y., 2003; Kujawa J. et al., 2004; Primo F.L. et al., 2011], запускается каскад Ca^{2+} зависимых процессов [Полтанов Е.А. 2005]. Изменение одного из параметров клеточного гомеостаза вызывает целый каскад других изменений, что и объясняет многообразие биологических откликов в ответ на облучение лазером [Кару Т.Й., 2005].

Лазерная терапия нашла широкое применение в кардиологии. Исследователями отмечается целый ряд эффектов НИЛИ: вазодилатация, улучшение микроциркуляции, формирование и рост новых микрососудов [Кулова Л.А., Бурдули Н.М., 2014; Cury V. 2013; Park I.S., Chung P.S., Ahn J.C., 2014], снятие болевого синдрома под действием НИЛИ [Полтанов Е.А. 2005; Рыжакин С.М., 2005; Гутнова С.К., 2011].

Было показано, что за счет активации синтеза белков теплового шока лазерное излучение восстанавливает структуру частично денатурированных белков и альтерированных внутриклеточных органелл. Оно уменьшает ишемические повреждения клеток сердца и зону инфаркта миокарда [Yang Z. et al., 2011; Zhang R., et al., 2009]. После лазерного облучения в ишемизированном миокарде увеличивается количество неповрежденных митохондрий, возрастает уровень АТФ и белков теплового шока, стимулируется продукция VEGF в эндотелиальных клетках и клетках сосудистых гладких мышц,

возрастает экспрессия iNOS. что ведет к новообразованию сосудов, уменьшению зоны инфаркта и ускорению восстановления контрактальной функции сердечной мышцы [Tuby H, Maltz L, Oron U., 2006; Физиотерапия: национальное руководство, 2009; Zhang R. et al, 2009].

Исторически первым методом применения лазерной терапии, разработанным около 25 лет назад, было внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) гелий-неоновым лазером [Терехов А.И., 2004; Давыденко Т. Е., 2006; Газданова А.А., 2009; Хосровян А.М., 2010]. ВЛОК считается важным методом гемокоррекции [Николаевский Е.Н., 2004]. Под действием лазерного облучения происходит нормализация реологических свойств крови, увеличение сократительной способности левого желудочка, нормализация электрической стабильности миокарда [Кожура Л.В. с соавт., 1993; Сиренко Ю.Н. с соавт., 1991; Давыденко, Т. Е. 2006, Лозовая Л.П., 2005; Тимошенко Т.Е., 2010]; увеличивается количество и активность иммунокомпетентных клеток, происходит стимуляция фагоцитоза, повышается бактерицидная активность крови [Мешалкин Е.Н., Сергиевский В.С., 1989; Авруцкий М.Я. с соавт., 1991], стимуляция эритропоэза, улучшение кислородтранспортной функции эритроцитов, [Авруцкий М.Я. с соавт., 1991; Бриль Г.Е., 2000; Гиреева Е.Ю., 2010; Байбеков И.М. Стрижков Н.А., 2012]. ВЛОК активизирует антиоксидантную систему, способствует утилизации продуктов перекисного окисления липидов [Гиреева Е.Ю., 2010]. Терапия оказывает гипокоагуляционное и фибринолитическое действие, сочетающееся с эффектом ускорения кровотока в микрососудах, что создает оптимальные условия для нормализации нарушенной гемодинамики [Савина Л.В., Зиньковская Т.М., 1992; Бойчев О.Д., 2002; Давыденко Т.Е. 2006; Крифариди А.С., 2008]. Уменьшается агрегация эритроцитов и тромбоцитов, улучшается функция эндотелия [Александрова О.М., 2008; Бурдули Н.М., Кехоева А.Ю., 2010]. Однако,

при данном виде лазерной терапии требуются специальные стерильные световоды, проведение пункции вены, лазерное воздействие достаточно длительно по времени из-за малой мощности излучения.

Развитие лазерных технологий привели к появлению новых терапевтических лазерных аппаратов, излучающих в ближней инфракрасной области спектра с мощностью излучения в импульсе до 5-8 Вт и более, а также аппаратов высокой мощности для применения в хирургии. [Минаев В.П., 2012] Было показано, что излучение в диапазоне 800-1000 нм глубоко проникает в биологические ткани, что позволяет проводить воздействие неинвазивными методами. [Буйлин В.А., 1998; Кузнецов С.И., 2007] Были разработаны методы чрезкожного (надвенозного) облучения крови, а также многообразные методики воздействия на биологически активные точки, накожного воздействия на области проекции отдельных органов [Амиров Н.Б., 2004; Соловьева Е.Л., 2006]. Было показано, что, несмотря на более низкую энергию фотона, лазерное ИК излучение также вызывает положительные изменения в функционировании ССС при различных заболеваниях [Кузнецов С.И. 2007; Сапожников М.Ю. с соавт 2012;].

В настоящее время в сотрудничестве врачей и производителей медицинской аппаратуры разработано большое количество методик лазерного лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы [Бабушкина Г.В., Картелишев А.В., 2000; Васильев А.П., 2003; Москвин С.В., Ачилов А.А., 2008; Илларионов В.Е., 2013]. Опыт применения лазерной терапии обобщен в национальном руководстве [Физиотерапия : национальное руководство, 2009]. Однако режимы лазерного воздействия подбираются эмпирически. Существует представление о довольно узком терапевтическом окне плотности мощности при проведении лазерной терапии. [Бриль Г.Е. 2000; Кару Т.Й., 2005; Загускин С.Л., 2005]. Считается, что при повышении мощности излучения выше определенного уровня вместо усиления

пролиферации клеток наблюдается ее ингибирование. Однако эти данные были получены преимущественно на культурах тканей и не могут быть перенесены на организм из-за многообразия процессов, происходящих в живых тканях, увеличенного теплообмена и обмена энергией за счет кровотока, расположения тканей-мишеней терапевтического воздействия на значительной глубине. Все это создает необходимость изучения физиологического воздействия лазерного излучения в разных режимах на сложных живых объектах в эксперименте.

В последние годы были разработаны методики применения высокоинтенсивного лазерного излучения в терапевтических целях (так называемого среднеинтенсивного лазерного излучения). Высокие мощности лазерной энергии, применяемые в специальных режимах, не повреждающих кожные покровы, используются для достижения эффекта в глубоко лежащих тканях [Патент 2292925 РФ, 2004; Головнева Е.С. и др. 2012, 2013; Alayat M.S. et al., 2014; Santamato A. et al., 2009; Fiore P. et al., 2011; Stiglić-Rogoznica N., 2011; Lee S. et al., 2014; Kheshie A.R. et al., 2014]. Эффективность применения среднеинтенсивного лазерного излучения в терапевтической практике требует проведения дальнейших исследований механизмов и применимости данного воздействия при различных патологиях.

1.2 Влияние лазерного излучения на красный костный мозг

В последнее время возрос интерес к воздействию лазерного излучения на красный костный мозг и отдельные популяции клеток костномозгового происхождения [Dörtbudak O. et al., 2000; Guzzardella G.A. et al., 2002; El-Maghraby E.M. et al., 2013; Ebrahimi T. et al., 2012]. В частности изучались возможности использования лазерного излучения для «прекондиционирования» клеток красного костного мозга для клеточной терапии, их активизации и повышения их пролиферативного

потенциала [Giannelli M. et al., 2013; Anwer A.G. et al., 2012; AlGhandi A. et al., 2012]

Показано, что при воздействии лазерного излучения красного гелий-неонового лазера (633 нм) и инфракрасного лазера (890 нм) отмечалась пролиферация клеток красного костного мозга и увеличение потенциала к образованию колоний, причем эффект наблюдался как *in vitro*, так и *in vivo* [Семенков В.Ф. и др., 1993; Vacek A. et al., 1990; Ruczek M. et al., 1994; Garavello I. et al., 2004].

При воздействии лазерного излучения на область бедра крыс, предварительно облученных гамма-излучением, восстанавливалась пролиферация клеток красного костного мозга как в леченной, так и в не подвергшейся действию излучения конечности. Таким образом, было показано, что лазерное излучение оказывает системное действие [Kolesnikova A.I. et al., 1998].

После облучения гелий-неоновым лазером поврежденной бедренной кости крысы увеличивалось новообразование сосудов костного мозга, наблюдалось ускорение депозиции костного матрикса и активное восстановление поврежденной ткани [Garavello I. et al., 2004].

Работы, исследовавшие реакцию тучных клеток красного костного мозга на лазерное излучение красное и инфракрасное лазерное воздействие показали активацию их дегрануляции, увеличение количества и повышение относительной плотности сосудов костного мозга [Кравченко Т.Г., 2008].

При исследовании действия низкоинтенсивного лазерного излучения на мезенхимальные стволовые клетки красного костного мозга было показано, что низкоинтенсивная лазерная терапия стимулировала их пролиферацию в широком диапазоне плотностей энергии. Значительно увеличивалась секреция этими клетками факторов роста и ускорялась их дифференциация в остеобласты и нейроны на фоне цитокиновой стимуляции. Таким образом, лазерное воздействие

может служить для прекондиционирования МСК перед трансплантацией [Hou J.F., 2008; Soleimani M., 2012]. Важно, что при этом под действием лазерного излучения увеличивается высвобождение из клеток разнообразных факторов роста bFGF, IGF-I и IGFBP3 [Saygun I., 2012].

Серия исследований, проведенных Н Tuby с соавторами показала, что у крыс после хирургически вызванного инфаркта миокарда при чрезкостном облучении костного мозга бедра усиливается пролиферация мезенхимальных клеток красного костного мозга, их мобилизация и специфический хоуминг в поврежденную сердечную мышцу [Tuby H., Maltz L., Oron U. 2011; Oron U., 2011]. Данная процедура также вызвала выраженное и статистически значимое уменьшение рубца и дилатации желудочка после инфаркта по сравнению с крысами, у которых облучение после инфаркта не проводилось. После облучения красного костного мозга диодным лазером с длиной волны 804 нм через световод диаметром 1,5 мм плотностью мощности 10 мВт/см² в течение 100 секунд наблюдалось уменьшение инфаркта на 55% по сравнению с контролем, статистически значимо увеличивалось количество циркулирующих макрофагов и мезенхимальных стволовых клеток. На границе зоны инфаркта наблюдалось формирование новообразованных кардиомиоцитов, что подтверждалось их ультраструктурными особенностями [Tuby H., Yaakobi T., et al., 2013]. Также было показано отсутствие каких-либо долговременных побочных эффектов на организм животных при лазерном воздействии, как в оптимальной дозе, так и в дозе, в 8 раз превышающей оптимальную [Tuby H., Hertzberg E., Maltz L. et al., 2013].

1.3 Тучные клетки в регуляция репарации и микроциркуляции

Тучные клетки обнаруживаются практически во всех органах и тканях. Они обычно тесно прилежат к периферическим нервам, кровеносным и лимфатическим сосудам, поэтому вырабатываемые ими

биологически активные вещества являются легко доступными для нервных окончаний, эндотелия, гладкомышечных клеток и фибробластов [Гавришева Н.А., Ткаченко С.Б., 2003]. Благодаря сложным функциональным взаимодействиям с клеточным окружением и системами организма систему тучных клеток иногда рассматривают как специфическую регуляторную сеть [Арташян О.С. и др., 2006; Юшков Б.Г. и др., 2006].

Большое количество работ посвящено роли тучных клеток в физиологии и патологии сердца, где они принимают активное участие в процессах воспаления, структурной перестройки тканей и неоангиогенеза [Levick S.P. et al., 2011]. ТК сердца относятся к популяции соединительнотканых ТК. В норме ТК в сердце немного, но их количество резко возрастает при миокардите и различных типах кардиомиопатий и при экспериментальной патологии миокарда [Ерохина И.Л. и др., 2006; 2009; Жданов В.С. и др., 2006; Gilles S. et al 2003; Somasundaram P. et al., 2005; Levick S.P. et al., 2011]. Количество тучных клеток в сердце резко увеличивается после инфаркта миокарда в фазе заживления, особенно в областях накопления коллагена. [Engels W. et al., 1995; Frangogiannis N.G. et al., 1998; Kinet J.P., 2007; Levick S.P. et al., 2011].

Имеются данные о том, что при сердечно-сосудистой патологии ТК участвуют в индукции гипертрофии сердца и фиброза, которые приводят, в конечном счете, к сердечной недостаточности [Shiota N. et al., 2003; Levick S.P. 2011]. В связи с этим делаются попытки модулировать ход течения патологического процесса с помощью различных препаратов – стабилизаторов мембран тучных клеток, блокаторов гистамина и пр. [Fairweather D. et al., 2004; Reid A.C. et al., 2011; Kennedy S. et al., 2013]

Тучные клетки (мастоциты, ТК) имеют костномозговое происхождение. Их предшественником являются CD 34⁺ -

плюрипотентные гемопоэтические стволовые клетки с фенотипом Fc γ RI, c-kit⁺ [Dahlin J.S., Hallgren J., 2014]. Предшественники тучных клеток выходят в кровь, а затем мигрируют в ткани, где и происходит их окончательное созревание и формируется специфический фенотип, что обеспечивает выполнение ТК различных функций в зависимости от вида ткани [Быков В.Л., 1999, 2000; Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001; Galli S.J. 2000; Norrby K., 2002; Hallgren J., Gurish M.F., 2007; Dahlin J.S., Hallgren J., 2014]. Популяция тучных клеток гетерогенна. Тучные клетки различны по ответу на различные стимулы и фармакологические агенты, продукции цитокинов, цитотоксичности [Frossi V. et al., 2004], различаются морфологически и ультраструктурно [Metcalf D.D., 1997; Dvorak A.M., 2005].

Тучные клетки составляют примерно 2,5 % от общего количества клеток красного костного мозга [Jamur M.C. et al., 2001]. При экстремальных воздействиях (гипоксии, кровопотере, иммобилизационном стрессе) наблюдается миграция ТК с уменьшением абсолютного количества ТК в костном мозге и повышением на периферии [Арташян, О.С. и др., 2006; Климин В.Г., Кузмин А.И., 2006]. Широко известно патогенетическое значение тучных клеток при воспалительных и аллергических реакциях [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001; Frossi V. et al., 2004; Kashiwakura J et al., 2011; Trivedi N.H. et al., 2013], однако и в физиологических процессах они также играют большую роль за счет секреции многочисленных биологически активных веществ [Nienartowicz A. et al., 2006; Weller C.L. et al., 2011; Wulff V.C. 2013]. В гранулах тучных клеток запасаются преформированные гистамин, серотонин, аденозин, гепарин, ферменты (триптаза, химаза, эластаза, желатиназы и коллагеназы, пероксидаза и супероксиддисмутаза и другие) и хемотаксические факторы для эозинофилов и нейтрофилов. При наличии соответствующего стимула, синтезируются de novo липидные медиаторы и продукты

трансформации липидов мембраны – простагландины (PGD₂), лейкотриены (LTB₄, LTC₄, LTD₄) и тромбоксаны (TXA₂ и TXB₂), а также разнообразные цитокины: ИЛ 1,3,4,5,6,8,10; ГМ-КСФ, ФНО-альфа, ФНО-β, ФРСЭ и ФРФ-β [Бережная Н.М., 2003; Frossi B., 2004; Nienartowicz A. et al., 2006; Nakae S. et al., 2007; Beaven MA., 2009].

Гистамин в физиологических условиях способствует ускорению кровотока и транскапиллярного обмена, дренажа тканей, стимулирует фагоцитоз и укорачивает время кровотечения [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001, Weller K et al., 2006]. В сочетании с другими медиаторами, например, серотонином и гепарином, оказывает модулирующее влияние на лейкоцитарную реакцию. Реакция нейтрофильных гранулоцитов на гистамин опосредуется H₂-рецепторами, а моноцитов – H₁ рецепторами. Воздействуя на H₁ и H₂ рецепторы эндотелиоцитов, гистамин ТК участвует в процессе неоангиогенеза. Благодаря наличию H₃-рецепторов гистамина на поверхности ТК секреция гистамина, вероятно, подвергается авторегуляции [Быков В.Л., 2000; Ohkubo T. et al., 1994]. Гистамин может модулировать дегрануляцию тучных клеток, действуя через стимуляцию макрофагов и клеток селезенки [Carlos D. et al., 2006]. Гистамин является одним из регуляторов выделения цитокинов нейтрофилами и макрофагами [Бережная Н.М., 2003; Du M., Marone G. et al., 2003; Schneider E., 2004]. Гистамин стимулирует синтез клетками ИЛ-3 и тем самым поддерживает пролиферацию стволовых клеток костного мозга и гемопоэз, способствует созреванию тучных клеток из предшественников [Yong L.C. 1997].

Протеогликаны тучных клеток (гепарин и хондроитинсульфат) обеспечивают хранение синтезированных продуктов в гранулах ТК, стабилизируют протеазы и ферменты, защищают синтезируемые факторы роста от деградации. [Qu Z. et al., 1995; Stevens RL, Adachi R. 2007].

Гепарин тучных клеток может действовать как антикоагулянт, участвовать в регуляции клеточной пролиферации, стимулировать миграцию эндотелиальных клеток в капиллярах; контролировать связывание ферментов с клеточной поверхностью, усиливать действие эластазы, модулировать активность триптазы [Быков В.Л., 1999; Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001].

Дискутабельным является выделение ТК оксида азота. По некоторым данным, при стимуляции ТК выделяют оксид азота (NO) в результате активации индуцибельной NO-синтазы (iNOS). NOS выделяется в гранулах ТК, быстро исчезая после экзоцитоза [Быков В.Л., 1999; Mannaioni F. et al., 1991; Bidri M. et al., 1997, 2001]. Оксид азота вызывает снижение дегрануляции тучных клеток, и таким образом может участвовать в ауторегуляции дегрануляции [Coleman J.W., 2002]

По данным других исследователей, тучные клетки не продуцируют NO самостоятельно [Swindle E.J., et al., 2004], но реагируют на оксид азота, вырабатываемый макрофагами находящимися во взаимодействии с ТК.

Тучные клетки вырабатывают также активные формы кислорода (ROS), в частности, супероксид анион [Mannaioni F. et al., 1991; Brooks A.C. 1999; Swindle E.J., et al., 2004, 2007].

Цитокины тучных клеток могут как накапливаться в секреторных гранулах совместно с другими медиаторами, так и синтезироваться *de novo* при стимуляции тучных клеток [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001, Frossi B., 2004; Okayama Y., 2005, 2006]. Без предварительной стимуляции образуются ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-16, ИЛ-18, ГМ-КСФ, после стимуляции вырабатываются ИЛ-3, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-13, ФНО α , ряд лейкоцитарных хемотаксических факторов (MIP-1 α и β макрофагальный воспалительный протеин, MCP-1 – хемоаттрактант моноцитов) [Бережная Н.М., Сепиашвили Р.И., 2003; Möller A et al., 1993; Frossi B., 2004].

Известна роль ТК в регуляции процессов регенерации и неоангиогенеза [Головнева Е.С., 2001, 2003; Heissig V. et al., 2002; Nienartowicz A. et al., 2006; Okayama Y. 2006; Weller K., 2009], которая осуществляется как за счет выделения факторов роста - специфических цитокинов, усиливающих митотическую, пролиферативную и миграционную активность клеток, так и за счет выработки протеолитических ферментов, создающих базисные условия для миграции клеток и образования новых сосудистых структур [Головнева Е.С., 2002 Бережная Н.М., Сепиашвили Р.И., 2003; Crivellato E et al., 2004].

Выработка тучными клетками оФРФ делает их уникальными регуляторами состояния соединительной ткани, фиброгенеза и преобразования внеклеточного матрикса. В отличие от других клеток мастоциты продуцируют этот фактор роста даже в неповрежденном миокарде [Головнева Е.С., 2001; Киселева Е.П. и др.. 2009].

Синтез ФРСЭ (VEGF) позволяет мастоцитам влиять на процессы роста новых сосудов в ишемизированных тканях, регулировать местный протеолиз и является одним из механизмов воздействия тучных клеток на сосудистую проницаемость. Известно, что выделение VEGF тучными клетками зависит от множества стимулов, действующих в процессах репарации миокарда, таких как регулирующие воспаление нейрпептиды (субстанция P, кортикотропин-релизинг фактор), простагландины, TNF α [Головнева Е.С., 2003; Theoharides S et.al., 2010; Shaik-Dasthagirisaheb Y.B. et.al., 2013.; Yang Y. et.al, 2015].

По мнению большинства исследователей, протеазы тучных клеток играют ведущую роль в процессах ремоделирования сердца, в том числе после перенесенного инфаркта, на фоне гипертензии и / или перегрузки объемом [Patella V., ., et al. 1997, 1998; Somasundaram P. et al, 2005 Janicki J.S, et al, 2005, Stevens R.l. et al, 2007]. Дегрануляция тучных клеток с выделением протеаз стимулируется эндотелином-1.

ММП 1, ММП 2 и 9 (желатиназы), ММП 13 синтезируются мастоцитами в неактивных формах. Триптаза и химаза тучных клеток активируют эти ферменты. Кроме того, триптаза влияет на синтез урокиназного активатора плазминогена, благодаря которому также активируются ММП и плазмин - зависимый протеолиз [Brower G.L., Chancey A.L., Thanigaraj S., 2002; Chancey A.L., Gardner J.D., Murray D.B. et al., 2005; Carmeliet P., Moons L., Lijnen R., et al. 2007]. Выделение во внеклеточный матрикс химазы тучных клеток приводит к ускорению созревания предшественников тучных клеток в сердце, что увеличивает количество функционально активных мастоцитов [Olivetti G., Lagrasta C., Ricci R., 1989; Engels W. et al., 1995]. Известно, что коллагенолитические ферменты сердечных тучных клеток перестраивают структуру миокарда очень быстро – от 30 минут до нескольких часов [Stewart J.A., Wei C.C., Brower G.L., et al. 2003].

Активация ТК может происходить при участии иммунологических и не иммунологических механизмов. При этом зависимости от вещества-стимула наблюдается наличие или отсутствие выделения гистамина, тип дегрануляции, меняется ассортимент продуцируемых цитокинов [Гавришева Н.А., Ткаченко С.Б. 2003; Синцов Д.Л. и др., 2007; Grable J. et al., 1994; Karimi K. et al., 2000; Okabe T. et al., 2006; Rivera J. et al., 2006; Galli S.J. et al., 2005].

Дегрануляция может осуществляться либо путем экзоцитоза, либо путем постепенного выделения небольших порций содержимого гранул посредством микровезикулярного транспорта. Массивная дегрануляция осуществляется в течение нескольких секунд и минут после начала активации, а постепенная длится сутками [Быков В.Л., 1999; Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001,53].

Выраженными дегрануляторами ТК являются физические факторы и физиологический стресс [Трунова Г.В., 2004; Арташян, О.С. и др., 2006; Baldwin AL., 2006; Santos J et al., 2008; Theoharides T.C. et al.,

2012]. Лазерное излучение также вызывает дегрануляцию тучных клеток [Черток В.М. и др., 1989; Козель, А.И. и др, 1999; Кравченко Т.Г., Головнева Е.С., 2008; el Sayed S.O., 1996; Bayat M. et al., 2008]. особенно выраженную при высокоинтенсивном облучении, когда имеется термическое воздействие [Головнева Е.С., 2001, 2003; Pinheiro A.L.et al, 1995].

Очевидно, что оценка активации тучных клеток при репаративном процессе в сердце может быть неоднозначной и должна сопоставляться с другими показателями.[Bhattacharya K. et al, 2007; Erelman S. et al, 2012; Frangogiannis N.G., 2014].

1.4 Клеточная терапия заболеваний сердца.

Известно, что сердце взрослого человека обладает ограниченной способностью к регенерации по сравнению с другими органами. Считается, что собственным источником регенерации миокарда являются так называемые малые кардиомиоциты [Beltrami A.P. et al., 2003]. В норме митотический индекс для миокарда человека составляет 11 делящихся кардиомиоцитов на 1 миллион клеток. Инфаркт миокарда приводит к усилению пролиферативной активности клеток в периинфарктной зоне. К сожалению, в очаге некроза делятся главным образом фибробласты, которые устойчивы к гипоксии, поэтому на месте инфаркта формируется рубец, а не здоровый миокард. [Маслов Л.Н. и др., 2013].

В последние годы было показано, что кардиомиоциты могут обновляться за счет стволовых клеток-предшественников красного костного мозга. Острые ишемические повреждения миокарда запускают процессы восстановления, включающие мобилизацию костномозговых клеток-предшественников. Однако было показано, что степень дифференциации этих клеток в кардиомиоциты мала, и большая часть наблюдаемых положительных эффектов может быть связана с паракринной регуляцией процессов воспаления и ремоделирования в

миокарде. [Маслов Л.Н. и др., 2013; Hatzistergos K.E. et al., 2010; Loffredo F.S., et al., 2011; van den Akker F. et al., 2013; Fisher S.A., et al., 2013; Nagareddy P.R. et al. 2014]. В частности, было показано, что стволовые клетки оказывают влияние на все типы клеток иммунной системы после инфаркта миокарда, что позволяет уменьшить воспаление и ремоделирование сердца [van den Akker F. et al., 2013]

В настоящее время большой интерес проявляется к разработке методов клеточной терапии инфарктов миокарда, кардиомиопатии и других заболеваний сердца. При этом большая часть исследований посвящена аутотрансплантации клеток-предшественников, полученных из костного мозга пациента [Abdel-Latif A. et al., 2007; Reyes G. et al., 2009; Kandala J. et al., 2013; Fisher S.A., et al., 2013; Hoover-Plow J., Gong Y., 2012; Ghodsizad A. et al., 2012], но также ведутся работы с использованием скелетных миобластов, клеток-предшественников из сердца и жировой ткани, а также индуцированных плюрипотентных клеток [Hoover-Plow J., Gong Y., 2012; Nursalim A., Katili P.A., Santoso T., 2014].

Интересны исследования введения собственных стволовых клеток миокарда взрослых млекопитающих. Считается, что именно эти стволовые клетки имеют наибольший потенциал для дифференцировки в кардиомиоциты и могут быть использованы для лечения сердечной недостаточности и инфаркта миокарда. В ряде работ, идущих в режиме клинических испытаний, такие СК культивируются из материала, полученного из правого предсердия, часть которого удаляется в ходе операции аортокоронарного шунтирования [Bolli R. et al., 2011, 2013; Chugh A.R. et al., 2012; Hong K.U., Bolli R., 2014].

В клинических исследованиях используются разные популяции клеток костномозгового происхождения: моноклеары костного мозга, мезенхимальные стволовые клетки и циркулирующие клетки-предшественники, мобилизованные из красного костного мозга.

Применение клеточной терапии ведет к улучшению фракции выброса левого желудочка, уменьшению рубца после инфаркта и уменьшению конечного систолического объема левого желудочка [Матюков АЛ., 2006; Abdel-Latif A. et al., 2007; Gneccchi M., Danieli P., Cervio E., 2012; Fisher S.A., et al., 2013]

Так, метаанализ данных 10 рандомизированных клинических испытаний с участием 519 пациентов по терапии хронической кардиомиопатии стволовыми клетками красного костного мозга показал, что в результате лечения достоверно увеличивается фракция выброса левого желудочка, происходит улучшение качества жизни, устойчивости к физическим нагрузкам. Инъекция клеточного материала непосредственно в миокард дает лучшие результаты, чем интракоронарная инфузия [Kandala J. et al., 2013].

Однако обнадеживающие результаты клинических испытаний остаются весьма умеренными. Так, в исследовании S. Set et al после интракоронарного введения аутогенных клеток красного костного мозга фракция выброса левого желудочка возросла на 5% [Set S. et al, 2006], в исследовании TOPCARE-DCM улучшение сократимости и фракции выброса было также достоверным, но умеренным, в исследовании группы В. Vrtovec увеличение фракции выброса составило 5,7%. Эти изменения показателей ассоциировалось с увеличением соотношения капилляры/кардиомиоциты и улучшением кровоснабжения, наблюдалось возрастание устойчивости к физическим нагрузкам [Fischer-Rasokat U. et al., 2009; Vrtovec B. et al., 2013].

Подобные результаты были получены в исследованиях коллектива Новосибирского НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина [Ким И.И., 2012]. Мобилизация выхода прогениторных клеток из костного мозга под воздействием Г-КСФ у пациентов с тяжелой формой хронической сердечной недостаточности приводила к возрастанию содержания в кровеносном русле моноклеарных клеток с

фенотипом CD34+, CD34+/CD133+ и CD34+/VEGFR2+, что свидетельствует о выходе в кровотоки как гемопоэтических, так и эндотелиальных прогениторных клеток. Данные клетки продуцируют широкий спектр как провоспалительных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-12), так противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13), и цитокинов, обладающих проангиогенным действием (ИЛ-1 β , ЭПО, ГМ-КСФ, ФНО- α , ИЛ-6, ФРСЭ) [Повещенко О.В. и др., 2014]. Интрамиокардиальное введение моноклеарных клеток крови с фенотипом CD34+, CD34+/CD133+ и CD34+/VEGFR2+ пациентам с хронической сердечной недостаточностью приводило к увеличению толерантности к физической нагрузке, снижению класса сердечной недостаточности, увеличению фракции выброса левого желудочка сердца и к улучшению перфузии миокарда [Ким И.И., 2012].

Известно, что количество стволовых клеток, попадающих в область повреждения, сильно зависит от способа введения этих клеток. [Brenner W. et al., 2004]. Наиболее предпочтительно введение клеток непосредственно в зону повреждения [Mackie A.R., Losordo D.W. 2011; Nursalim A., Katili P.A., Santoso T. 2014]. Многообещающие результаты дает использование стволовых клеток в ходе операций по реваскуляризации сердца, в том числе трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации, в ходе которой осуществляется стимуляция тканей миокарда с помощью лазерного излучения [Gowdak L.H. et al., 2005; Patel A.N. et al., 2007; Reyes G. et al., 2009, 2010; Babin-Ebell J. et al., 2010; Ghodsizad A. et al., 2012; Konstanty-Kalandyк J. et al., 2013; Assmann A. et al., 2014].

Однако и просто увеличение количества циркулирующих клеток-предшественников в периферической крови также оказывает благотворное воздействие на течение сердечно-сосудистых заболеваний, в частности ИМ. На этом основаны методы лечения заболеваний сердца с помощью факторов, вызывающих мобилизацию СК. Так, Смолянинов

А.Б. с соавт. предложил метод лечения ОИМ с помощью Г-КСФ, вызывающего стимуляцию выхода клеток CD 34+ из красного костного мозга в периферическую кровь. У пациентов с инфарктом миокарда, которым вводили цитокины, отмечалось улучшение сократимости левого желудочка, увеличение фракции выброса, усиливался ангиогенез, увеличивалось количество нормально функционирующих кардиомиоцитов [Смолянинов А.Б. с соавт. 2006].

В экспериментальных исследованиях Tuby H. с соавт. показано, что воздействие лазерного излучения на зоны локализации красного костного мозга способствует выходу стволовых клеток из красного костного мозга в периферическую кровь и оказывает положительное влияние на процессы ретракции рубца после инфаркта у экспериментальных животных [Tuby H., Maltz L., Oron U., 2009, 2011], при этом является безопасным по результатам длительных наблюдений [Tuby H et al., 2013].

Для увеличения выживаемости и пролиферации СК в культуре разрабатывают различные методы прекондиционирования их перед введением. Интересные результаты получены при использовании для прекондиционирования лазерного излучения, которое оказывает положительный эффект на пролиферацию клеток, стимулирует выделение ими факторов роста и усиливает их дифференциацию [Tuby H. et al., 2007; Hou J.F. et al., 2008; Soleimani M. et al., 2012; Barboza C.A. et al., 2014].

Таким образом, использование клеточной терапии для лечения болезней сердца является наиболее многообещающим методом восстановления структуры и функции сердечной мышцы. Однако в настоящее время методики клеточной терапии сложны в выполнении, а их клинический эффект не всегда бывает достаточно выражен. Ведутся поиски способов усовершенствования выделения, прекондиционирования и введения стволовых клеток для обеспечения

наилучшего результата. Разработка неинвазивных способов мобилизации стволовых клеток и увеличения их пролиферативного потенциала с помощью лазерного излучения является интересной и перспективной.

Глава 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

2.1.1. Экспериментальный раздел.

Проведено экспериментальное исследование на 115 лабораторных беспородных белых половозрелых крысах обоего пола массой 180-220 г. животные были разделены на группы (Рисунок 1).

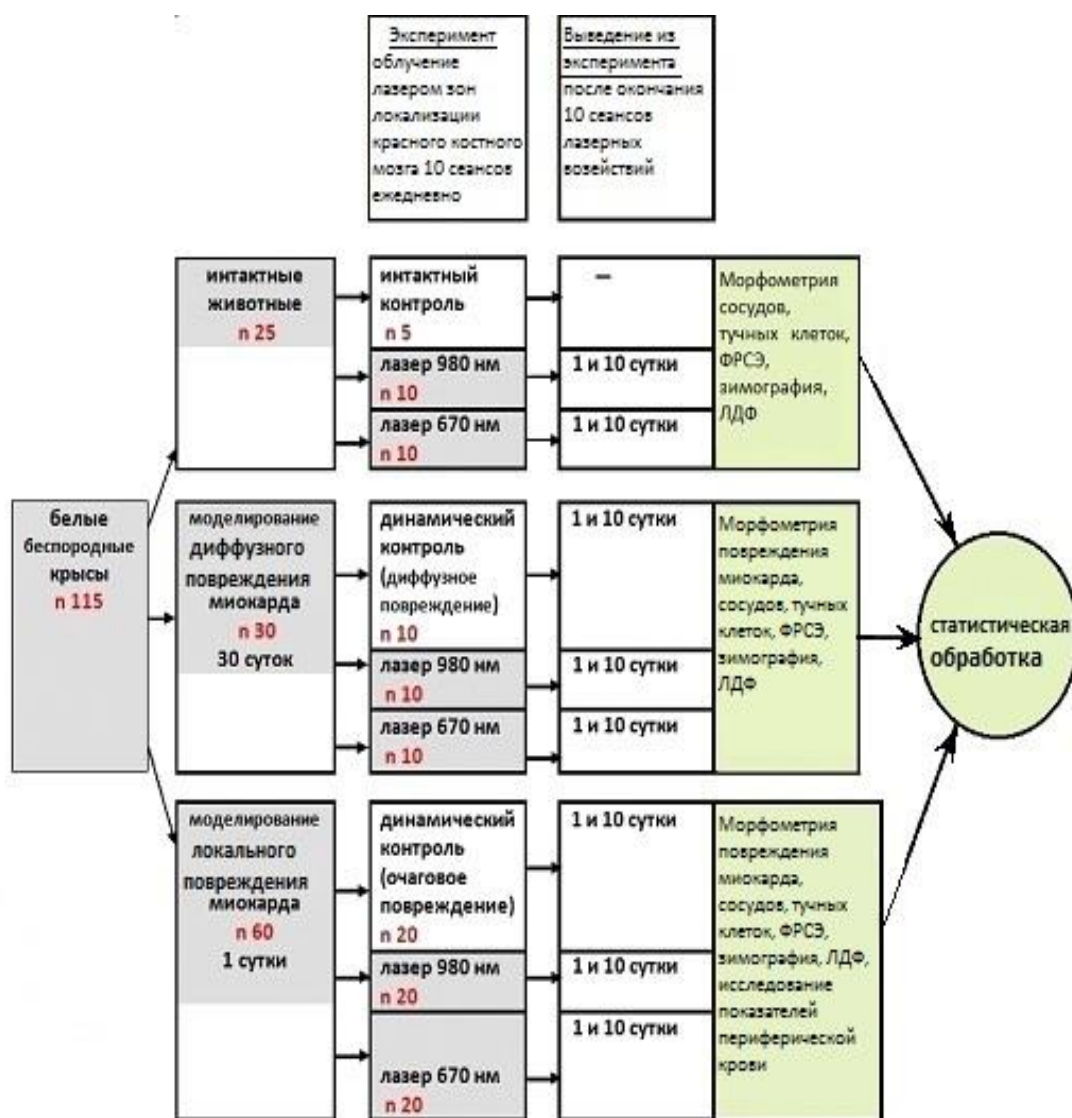


Рисунок 1. Дизайн экспериментального раздела работы.

Животные содержались в условиях вивария, регламентируемых приказом МЗ СССР №1179 от 10.10.1983 г., при свободном доступе к

воде и пище. Все эксперименты проводились в осенне-зимний период. Животные находились при искусственном освещении, с 12-ти часовым ритмом смены темного и светлого времени. Опыты проводили в соответствии с приказами МЗ СССР №755 от 12.09.77 г. и № 701 от 27.07.1978 г. и международными соглашениями об обеспечении принципов гуманного обращения с животными.

2.1.2. Клинический раздел

С целью изучения миграции стволовых клеток нами производилось исследование проб крови пациентов с острым инфарктом миокарда, получавших лазерную терапию в плане лечения основного заболевания в стационаре ОГУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии» и ГБУЗ ОКБ № 3 г. Челябинска.

Воздействие инфракрасным диодным лазером с длиной волны 980 нм осуществлялось дистанционно в сканирующем режиме, мощность воздействия составляла 3-5 Вт в непрерывном режиме, время воздействия на зону от 2 до 5 минут в зависимости от выраженности подкожной жировой клетчатки, проводили 7 сеансов (ежедневно).

Таблица 1.

Распределение больных ОИМ по группам для изучения миграции стволовых клеток в ответ на лазерное облучение костного мозга

	N
Контроль (до лазерного воздействия)	15
Через 1 час после лазерного воздействия	15
Через 10 суток после окончания лазерной терапии	7

Проводимое воздействие захватывало области локализации костного мозга - подвздошные кости, пояснично-крестцовый и грудной отдел позвоночника, грудину.

Пробы венозной крови брали до лазерного воздействия, через час после первого воздействия, через 10 суток после окончания лазерного лечения.

2.2 Моделирование локального очага повреждения миокарда крыс.

Данная методика была модифицирована из методики операции трансмиокардиальной реваскуляризации сердца крыс [Гужина О.А., Головнева Е.С., 1996], путем изменения режимов лазерного воздействия. Малотравматичная методика моделирования очагового повреждения миокарда предусматривала внутримышечную анестезию золетилом (0,01 мл стандартного раствора на 100 г. веса животного). Через 5 минут после введения анестетика, в состоянии наркоза, крысу укладывали на операционный стол в положении на спине, передние и задние конечности фиксировались растяжками к специальным держалкам.

Операционное поле обрабатывалось 70% спиртом. Слева от грудины по среднеключичной линии определялся верхушечный толчок. В его проекции острыми ножницами рассекалась кожа. Разрез проходил параллельно краю ребра, его длина составляла 1 см.

Затем по верхнему краю V ребра на расстоянии 0,5 см от грудины через межреберные мышцы в грудную полость вертикально вводился лазерный стерильный моноволоконный кварцевый световод. При соприкосновении с поверхностью сердца сердечные сокращения передавались на световод, который начинал вибрировать. В этот момент осуществлялось воздействие лазером в режиме коагуляции (980нм, время 5с, мощность 0,5 Вт в непрерывном режиме). При окончании

воздействия световод извлекался из грудной полости, хирургическая рана ушивалась шелковыми обвивными швами.

Послеоперационный период у всех животных протекал без осложнений. Стандартизированные параметры воздействия позволили получить очаг коагуляции мелких сосудов и эпикарда в бассейне нисходящей коронарной артерии на поверхности левого желудочка диаметром около 0,2 см сразу после операции. Очаг повреждения миокарда формировался в течение первых суток и увеличивал свой диаметр в 1,5-2 раза по сравнению со сформированной зоной коагуляции, дополнительно захватывая более глубокие слои.

2.3 Моделирование диффузных ишемических изменений миокарда крыс.

Ишемические изменения в миокарде крыс моделировали путем создания условий гиподинамического стресса [Рузов И.М., Даукша К.К., 1990]. Крысы помещались в индивидуальные узкие лотки, резко ограничивающие свободу движений, где выдерживались в условиях гиподинамии по 6 часов в сутки в течение 1 месяца. Состояние животных, оцениваемое визуально, после извлечения их из лотков значительно ухудшалось. Отмечался тремор конечностей, взъерошивание шерсти, вялость, повышенная жажда. Некоторые особи гибли на 2-3 сутки опыта.

2.4 Лазерное воздействие на зоны локализации красного костного мозга

В качестве источников лазерного излучения использовали диодный лазер “ИРЭ-Полюс” (Россия) с длиной волны 980 нм и диодный лазер «Лахта-Милон» (Россия) с длиной волны 670 нм.

Доставку лазерного излучения к объекту осуществляли с помощью кварцевого моноволоконного световода диаметром 600 мкм. Выходную

мощность на торце световода и головки излучателя контролировали измерителем мощности лазерного излучения Gentec TPM-300-CE (Canada).

Сеансы лазерного воздействия начинали после окончания моделирования повреждения миокарда. При диффузном повреждении – на следующий день после завершения гиподинамии (т.е. 31 сутки), при локальном повреждении - через 1 сутки после операции.

Сеансы лазерного воздействия проводились ежедневно, в течение 10 суток, в дистанционном сканирующем режиме на зоны локализации красного костного мозга (бедренные кости, тазовые кости, пояснично - крестцовый отдел позвоночника, хвост), воздействие осуществлялось через шерсть и кожу, мощность 1 Вт, по 1 минуте на зону.

2.5 Морфологические и морфометрические методы исследования миокарда.

Для оценки морфологии проводилась фиксация препаратов тканей 10% нейтральным формалином. После стандартной гистологической проводки, приготовления парафиновых блоков, срезы тканей окрашивались гематоксилином-эозином. Дополнительно ишемизированный миокард окрашивался по ГОФПК (гематоксилин, основной фуксин, пикриновая кислота) и Ван- Гизон.

Определение экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия проводилось иммуногистохимическим методом с использованием антител к фактору роста сосудистого эндотелия (Sigma), и системы Immu-markTM(ICN), метку щелочной фосфатазой выявляли нафтоловым методом с окраской быстрым синим ВВ (ICN).

Микроскопия объектов проводилась на микроскопе Leika DMRXA (Германия) с использованием увеличений 100, 200, 400 и 1000 (масляная иммерсия).

Морфометрические исследования проводились на аппаратно-программном комплексе Диаморф Цито® (Санкт-Петербург, Россия), осуществляющем цифровое преобразование видеоизображения гистопрепаратов, компьютеризированный подсчет параметров выбранных объектов и статистическую обработку полученных данных с помощью комплекта программ Диаморф Ипсо®.

Для морфофункциональной оценки тучных клеток парафиновые срезы окрашивались толуидиновым синим (рН 2,0), дающим метакроматическое окрашивание кислых гликозаминогликанов, содержащихся в гранулах тучных клеток. Подсчитывали общее количество тучных клеток на поле зрения. Дегрануляция тучных клеток изучалась при х400. В препаратах подсчитывалось соотношение количества дегранулировавшихся тучных клеток к их общему числу (индекс дегрануляции; $ИД = Д / (Д + Н)$, где Д – количество дегранулированных тучных клеток, Н – количество недегранулированных тучных клеток.) в 10 полях зрения. С помощью программы «ДиаМорф Cito_W» определялась интегральная оптическая плотность тучных клеток.

2.6. Морфофункциональная оценка сосудистого русла

С помощью компьютеризированной программы анализа светового изображения и программы «ДиаМорф Cito_W» в 10 полях зрения подсчитывалась доля площади препарата, занятая сосудами, а также измерялся просвет сосудов (радиус капилляров, диаметр вен и артерий), толщина сосудистой стенки и рассчитывался индекс Керногана (соотношение толщины стенки и диаметра просвета).

Оценка показателей микроциркуляции тканей производилась с использованием прибора ЛАКК-01 (Россия) на основе инфракрасного лазера с использованием трехканального светового зонда, смонтированного из кварцевых моноволоконных световодов. Животные

при измерении показателей были анестезированы зоветилом, как уже описывалось выше. Грудная клетка вскрывалась вдоль реберного края грудины слева. Показатели снимались датчиком, приложенным непосредственно к поверхности сердца. Время записи ЛДФ-граммы составляло 60 секунд. Математическая обработка показателей прибора осуществлялась с использованием комплекта программ ООО «Лазма» (Россия).

Определялся показатель микроциркуляции, который является функцией от усредненной скорости эритроцитов (V_{cp}) и концентрации эритроцитов в зондируемом объеме тканей ($N_{эр}$), зависящей от показателя гематокрита и количества функционирующих сосудов:

$$ПМ = N_{эр} \times V_{cp}$$

Величина ПМ измерялась в относительных перфузионных единицах (пф.ед.)

Определение индекса эффективности (флакса) микроциркуляции, являющегося соотношением амплитуды медленноволновых процессов (параметры активных механизмов регуляции тонуса микрососудов) и суммы амплитуд дыхательных и сердечных волн (пассивная регуляция тонуса сосудов, представленная колебаниями средней и высокой частоты) производилось в автоматическом режиме при записи ЛДФ-граммы.

2.7 Оценка желатинолитической активности (зимография матриксных металлопротеиназ в агарозном геле с внедренным субстратом)

Приготовление пробы: кусочки ткани миокарда помещали в микропробирку, взвешивали на электронных весах и добавляли равное по массе количество гомогенизирующего буфера, приготовленного по общепринятой методике [Tyagi S. et al., 1996]: 20мМ $CaCl_2$; 150мМ $NaCl$; 0,01% Triton X-100; 50 мМ Tris-Cl (pH 6,8). Препарат ткани сердца

гомогенизировали в течение 5 минут и использовали для дальнейшего исследования.

Приготовление геля: на водяной бане готовился 1% раствор агарозы (ICN) на кальциевом буфере (20 mM CaCl₂; 150 mM NaCl; 50mM Tris-Cl, pH 7,4) с добавлением 0,2% желатина. После полного растворения гель заливали в «сэндвич» из стекол, ширина зазора между которыми (1мм) была ограничена пластиковыми спейсерами. Гель оставляли для застывания при комнатной температуре.

Процедура зимографии: через 0,5 часа после застывания гель снимали со стекол, разрезали на части, помещали в чашки Петри и при помощи автоматической пипетки наносили пробы гомогенизата по 10 мкл. Чашки Петри закрывали и помещали в термостат при температуре 37° C на 16 часов.

Фиксация полученных зимограмм осуществлялась в 20% уксусной кислоте в течение 30 мин, окрашивание геля производилось Coomassie Brilliant Blue R-250.

Затем проводилась отмывка окрашенного геля в 7% уксусной кислоте. После отмывки гель сканировался в стандартных условиях в проходящем свете, и на сканированных изображениях определяли яркость области лизиса (оптическую плотность) с помощью программы анализа изображений «ImageScope M».

2.8 Оценка показателей периферической крови

Исследование показателей периферической крови проводилось в соответствии с требованиями клинико-гематологического обследования. Количество эритроцитов и лейкоцитов определяли унифицированным методом подсчета в камере Горяева, гематокрит - микрометодом с использованием стандартных гепаринизированных капилляров и центрифуги МЦГ-8. Количество ретикулоцитов определяли в мазках, окрашенных суправитально бриллиант крезилблау.

Сывороточный эритропоэтин определяли по стандартным протоколам иммуноферментного анализа с использованием реактивов «Вектор-Бест» (Россия).

2.9 Определение содержания CD 34⁺ клеток периферической крови человека методом проточной цитометрии

Оценка содержания CD34⁺/45⁺ клеток осуществлялась на проточном цитофлюориметре BD FACS Canto II (BD Biosciences) с использованием реактивов CD45⁺-FITC/CD34⁺-PE (BD Biosciences) по стандартизированному протоколу с определением относительного количества клеток.

2.10. Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью лицензионного пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc, США). Статистическая значимость различий сравниваемых признаков в группах (каждая экспериментальная группа состояла из 5 животных) проводилась с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни. В клиническом разделе исследования применялся критерий Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$, что соответствует 95% вероятности безошибочного прогноза. [Гланц С., 1998; Автандилов Г.Г., 2002].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

3.1 Динамика областей повреждения миокарда после лазерного облучения зон локализации костного мозга

Сравнительный анализ гистологических препаратов от животных с моделью диффузного повреждения миокарда проводился, начиная с 1 суток после окончания курса лазерного воздействия (т.к. крысы находились в условиях гиподинамии 30 суток, затем в течение 10 суток проводилось лазерное воздействие, фактически это были 41 сутки эксперимента).

В группе диффузного повреждения миокарда без лазерного воздействия при анализе гистологических препаратов на этом сроке исследования выявлялись однотипные изменения (Рисунок 2).

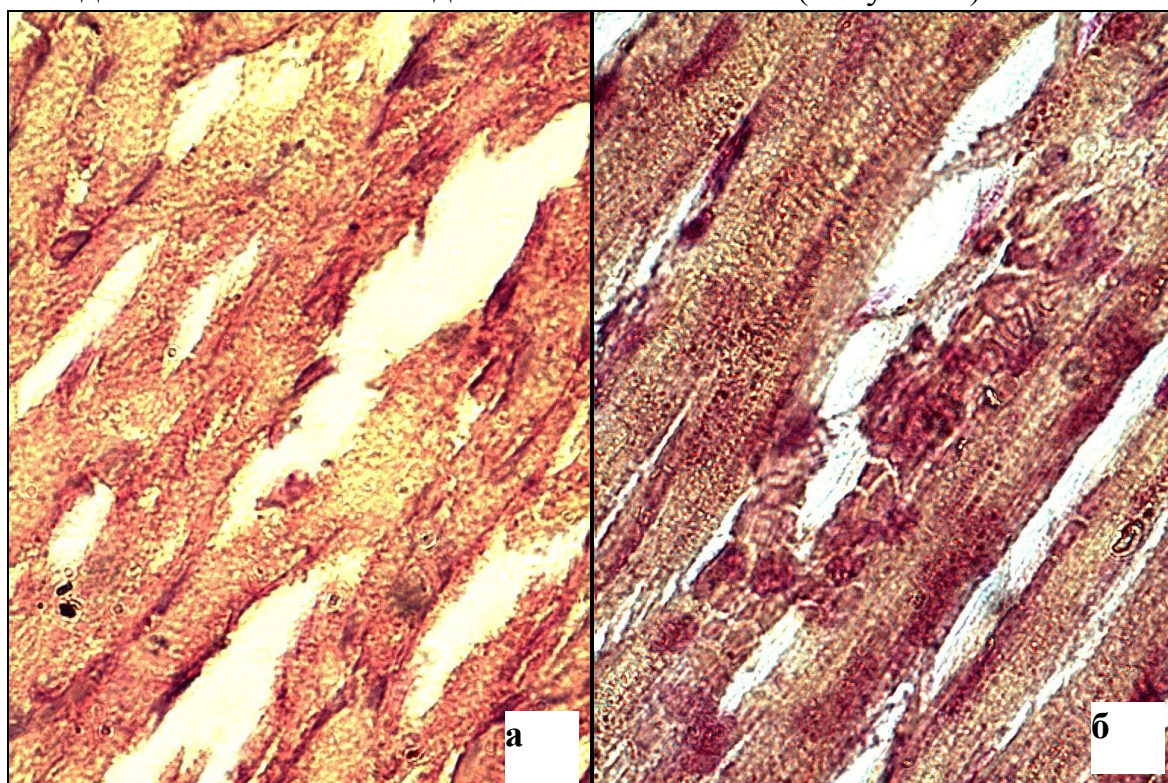


Рисунок 2. Диффузное повреждение миокарда без воздействия лазера на костный мозг, 1 сутки, ГОФПК ув. 400 а) миоцитоллизис б) глыбчатый распад кардиомиоцитов.

Артерии всех калибров имели утолщенные стенки за счет плазматического пропитывания средней оболочки сосуда. В некоторых артериях среднего и мелкого калибра констатировались набухание и переориентировка эндотелиоцитов с образованием фигур «частокола». Отмечалось паретическое полнокровие тонкостенных вен и капилляров. В субэндокардиальной зоне наблюдалось малокровие с участками дистонии и спазма сосудов среднего и мелкого калибра. Вокруг некоторых сосудов локализовались инфильтраты из лимфоцитов с примесью нейтрофильных лейкоцитов. Во всех полях зрения отмечались отек и разволокнение межучточной ткани.

При окраске ГОФПК в субэндокардиальных зонах левого и правого желудочков выявлялись мелкоочаговые диффузно рассеянные участки фуксинофильной дегенерации кардиомиоцитов. Изменения были преимущественно представлены участками глыбчатого распада мышечных волокон и миоцитолизиса. Наряду с этим встречались кардиомиоциты с усилением поперечной исчерченности (гиперрелаксация). Вблизи от эндокарда очаги сливались между собой и образовывали распространенные поля фуксинофильной дегенерации кардиомиоцитов.

В группе животных с диффузным повреждением миокарда, которые получали лазерное воздействие на красный костный мозг на сроке 1 сутки мы не отметили достоверной динамики площади ишемических изменений (фуксинофильных изменений по ГОФПК) (Таблица 1).

Однако на 10 сутки отмечалось значительное уменьшение площади ишемических изменений миокарда. Это происходило по всей площади препарата миокарда при воздействии лазера с длиной волны 670 нм, и только в области основания желудочков при воздействии длины волны 980 нм (Таблица 1, Рисунок 3).

Таблица 1.

Динамика относительной площади ишемических изменений (по ГОФПК) в миокарде с диффузным повреждением после лазерного воздействия на красный костный мозг, %.

зона	Срок исследования	Диффузное повреждение без лазерного воздействия	Диффузное повреждение + лазерное облучение 980 нм	Диффузное повреждение + лазерное облучение 670 нм
верхушка	1 сутки	11,2 (8,3; 15,6)	9,2 (7,7; 13,2) $p_1=0,345$ $p_3=0,401$	9,9 (7,9; 14,3) $p_2=0,345$
	10 сутки	10,5 (8,0; 14,2)	8,1 (6,3; 10,1) $p_1=0,012$ $p_3=0,529$	8,7 (6,9; 12,1) $p_2=0,009$
основа- ние	1 сутки	14,3 (8,1; 18,1)	11,3 (7,2; 16,2) $p_1=0,346$ $p_3=0,916$	11,9 (7,9; 16,0) $p_2=0,401$
	10 сутки	13,1 (7,6; 17,1)	10,1 (5,2; 14,1) $p_1=0,008$ $p_3=0,525$	11,3 (7,4; 16,1) $p_2=0,008$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 - между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

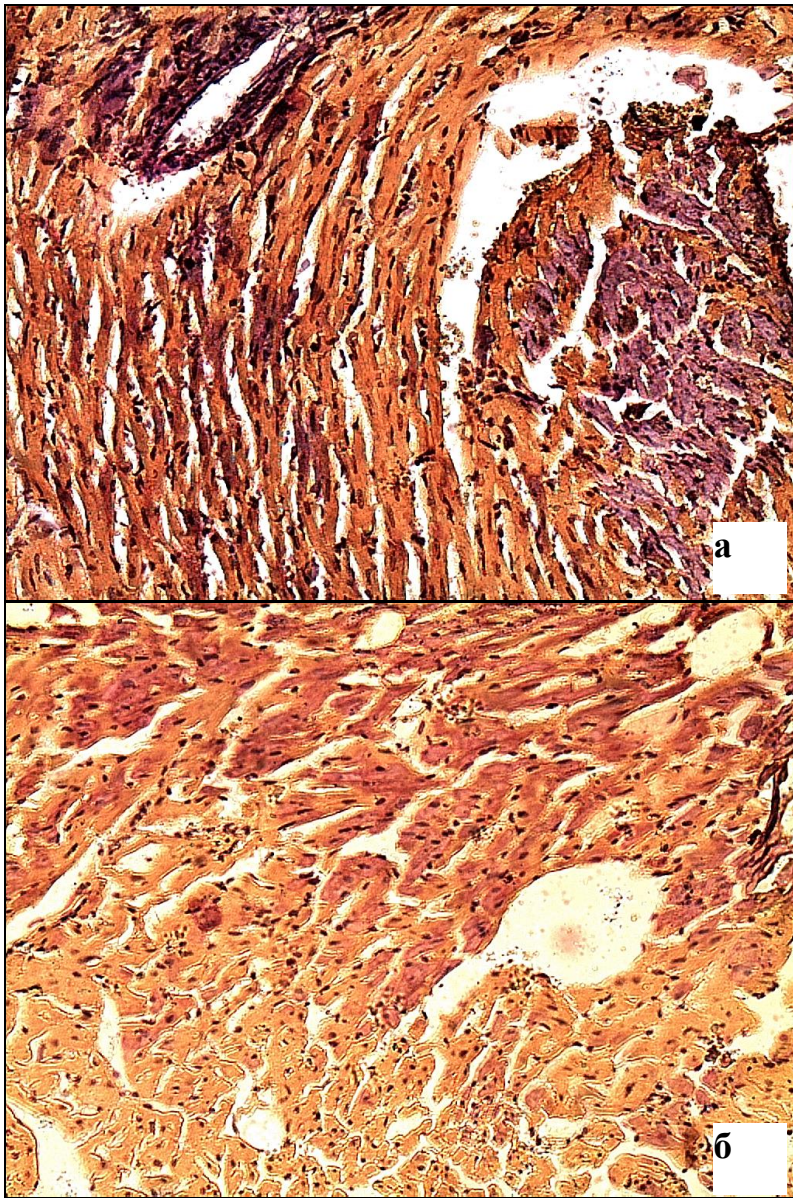


Рисунок 3. а) Диффузное повреждение миокарда без воздействия лазером на костный мозг, 10-е сутки. ГОФПК ув. 200; б) Диффузное повреждение миокарда, 10-е сутки после окончания лазерного воздействия на красный костный мозг. ГОФПК ув. 200.

Площадь коллагеновых волокон соединительной ткани в диффузно поврежденном миокарде, в группах животных, получивших лазерную терапию, в первые сутки не менялась. На 10 сутки после окончания воздействия происходило ее уменьшение по сравнению с группой животных без воздействия лазера в области основания

желудочков сердца. Но между разными лазерами при этом не наблюдалось отличий (Таблица 2).

Таблица 2.

Динамика относительной площади коллагеновых волокон соединительной ткани (по Ван Гизон) в миокарде с диффузным повреждением после лазерного воздействия на костный мозг, %.

Зона	Срок	Диффузное повреждение миокарда без лазерного воздействия	Диффузное повреждение + лазерное облучение 980 нм	Диффузное повреждение + лазерное облучение 670 нм
верхушка	1 сутки	1,05 (1,00; 3,00)	1,03 (1,00; 2,75) $p_1=0,673$ $p_3=0,754$	1,04 (0,9; 2,76) $p_2=0,347$
	10 сутки	1,04 (1,00; 3,00)	1,01 (1,00; 2,55) $p_1=0,675$ $p_3=0,753$	1,02 (0,9; 2,73) $p_2=0,459$
основание	1 сутки	2,61 (1,62; 5,01)	1,46 (1,05; 2,93) $p_1=0,173$ $p_3=0,463$	1,68 (1,04; 2,78) $p_2=0,347$
	10 сутки	2,51 (1,04; 4,01)	1,35 (1,02; 2,62) $p_1=0,007$ $p_3=0,307$	1,54 (1,04; 2,30) $p_2=0,023$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 - между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

Диаметр локального повреждения миокарда после окончания курса лазерного воздействия начал уменьшаться с первых суток наблюдения, на 10 сутки также имелись достоверные отличия от контроля. Разницы между воздействием двух лазеров не отмечалось (Таблица 3).

Таблица 3

Динамика диаметра (мм) локального повреждения миокарда после лазерного воздействия на костный мозг.

	Локальное повреждение без лазерного воздействия	Локальное повреждение +лазерное облучение 980 нм	Локальное повреждение +лазерное облучение 670 нм
1 сутки	3,1 (2,6; 3,9)	2,6 (2,2; 3,0) $p_1=0,008$ $p_3=0,4$	2,7 (2,3; 3,4) $p_2=0,008$
10 суток	3,0 (2,3; 3,8)	2,2 (2,0; 2,6) $p_1=0,013$ $p_3=0,759$	2,3 (2,1; 3,0) $p_2=0,02$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 - между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

Относительной площадью коллагеновых волокон соединительной ткани (по Ван Гизон) в миокарде с локальным повреждением после лазерного воздействия на костный мозг на первые сутки была достоверно выше, чем в группе сравнения, на 10 сутки разница между группами исчезала. Можно предположить, что проявлялась тенденция к замедлению коллагенообразования в группе с лазерным воздействием на красный костный мозг (Таблица 4).

Таблица 4.

Динамика относительной площади коллагеновых волокон соединительной ткани (по Ван Гизон) в миокарде с локальным повреждением после лазерного воздействия на костный мозг, %.

Зона	Срок	Локальное повреждение без лазерного воздействия	Локальное повреждение +лазерное облучение 980 нм	Локальное повреждение +лазерное облучение 670 нм
пери-фокальная	1 сутки	8,33 (6,22; 10,12)	12,15 (11,06; 15,85) $p_1=0,009$ $p_3=0,347$	13,22 (12,81; 16,85) $p_2=0,09$
	10 сутки	17,89 (12,6; 25,1)	14,72 (10,11; 19,37) $p_1=0,347$ $p_3=0,347$	15,99 (11,17; 21,42) $p_2=0,347$
очаг повреждения	1 сутки	16,12 (12,34;17,47)	8,14 (6,15; 9,25) $p_1=0,009$ $p_3=0,917$	7,25 (5,78;10,11) $p_2=0,009$
	10 сутки	26,62 (18,31; 28,93)	22,65 (14,89; 23,65) $p_1=0,147$ $p_3=0,754$	21,92 (15,71; 25,93) $p_2=0,147$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

Таким образом, воздействие лазерного излучения на костный мозг приводило к редукции зоны повреждения миокарда как при диффузном характере ишемии, так и в случае локального очага. При этом динамика зон повреждения миокарда при облучении лазерами с длиной волны 980 нм и 670 нм достоверно не отличалась. В исследованиях, проведенных ранее по изучению непосредственного влияния лазерного воздействия на костный мозг, было показано, что инфракрасное воздействие вызывает более выраженные изменения в реакции сосудов и тучных клеток, чем лазер излучающий, в красном спектре [Кравченко Т.Г., Головнева Е.С., 2008]. Соответственно, можно было ожидать более интенсивной репарации поврежденного миокарда при использовании инфракрасного излучения для воздействия на костный мозг, но по нашим данным этого не произошло.

Наши результаты по влиянию лазерного облучения костного мозга на усиление репарации миокарда с локальным повреждением подтверждаются данными, полученными группой израильских ученых под руководством U. Oron, которая работала с волной излучения 804 нм. Эти авторы отметили значительное уменьшение площади ишемических изменений миокарда крыс после воздействия на костный мозг лазером через 20 минут и 4 часа после формирования экспериментального инфаркта. В группе леченных животных достоверно увеличивалось количество пролиферирующих клеток (PCNA) на границе ишемизированного и нормального миокарда [Oron U., 2011; Tuby H., Yaakobi T. et.al., 2013].

В настоящее время не существует единодушного мнения об основном источнике регенерации миокарда. Эта роль признается как за малыми кардиомиоцитами, так и за мезенхимальными и гемопозитическими стволовыми клетками. Стволовые клетки при попадании из циркулирующей крови в миокард теряют свои поверхностные маркеры и приобретают новые, поэтому идентификация

их в экспериментах *in vivo* достаточно сложна. Однако в опытах по введению мезенхимальных стволовых клеток, полученных из мужского организма, в кровь особи женского пола, клетки, меченные флуоресцентным зеленым белком с Y хромосомой, спустя месяц обнаруживались в миокарде в количестве 2-4 % от первоначального. Этот факт является свидетельством длительной персистенции дифференцировавшихся до кардиомиоцитов аллогенных стволовых клеток, хотя многие авторы при этом не отрицают возможности образования химер [Повещенко А.Ф. и др, 2013]. Доказанным является усиление пролиферативных возможностей клеток миокарда при введении в кровь различных популяций стволовых клеток, в частности показано, что в миокарде возрастает содержание c-kit⁺ клеток, что видимо связано с паракриной активацией собственных стволовых клеток сердца [Tuby H., Yaakobi T. et.al., 2013]. Гемопоэтические стволовые клетки и более дифференцированные предшественники лейкопоэза способны паракрино влиять на кардиомиоциты, защищая их от апоптоза и некроза и активируя пролиферацию малых c-kit⁺ кардиомиоцитов [Дыгай А.М. и др., 2010]. В связи с этим, в последнее время получили приоритет представления о паракриной регулирующей роли стволовых клеток различных популяций. Повышение содержания стволовых клеток в крови любым способом, в том числе лазерным воздействием на костный мозг, способствует попаданию их в миокард и ускорению репаративных процессов.

Повреждение ткани сердца, в том числе и инфаркт миокарда, приводит к усилению пролиферативной активности клеток в периинфарктной зоне. Однако в очаге некроза делаются главным образом фибробласты, поэтому на месте инфаркта формируется рубец, а не нормальный миокард [Маслов Л.Н. и др., 2013]. Важную роль в этом процессе играет гипоксия, так как рост новой полноценной кровеносной сети не успевает за потребностями ткани миокарда. Малые

кардиомиоциты в условиях недостатка кислорода пролиферируют плохо, а фибробласты проявляют устойчивость к хронической гипоксии. Определенную роль может играть и микроокружение клеток, так как в зоне некроза происходит активация клеточного каскада воспалительного процесса, что также приводит к пролиферации фибробластов. Соответственно, чем больше площадь очага сформировавшейся соединительной ткани, чем больше она содержит грубых коллагеновых волокон, тем сильнее страдает сократительная функция сердца. И наоборот, быстрое сокращение этой зоны свидетельствует о более полноценном репаративном процессе [Abdel-Latif A. et.al., 2007]. Наши данные показывают, что лазерное воздействие на костный мозг вызывает замедление коллагенообразования по сравнению с контролем при локальном повреждении миокарда и достоверное уменьшение содержания коллагеновых волокон при диффузном характере повреждения.

Известно, что гипоксия и повреждение миокарда запускают такие процессы аутовосстановления, как неоангиогенез и мобилизация в периферическую кровь костномозговых клеток-предшественников, но эти репаративные процессы, как правило, не могут компенсировать тяжелый дефицит кровоснабжения и полноценно заместить тканевый дефект в миокарде [Crugh A.R. et.al., 2012; Cury V et.al., 2013]. Мы предполагаем, что усиление миграции стволовых клеток под действием лазера в поврежденной микард позволит успешно бороться с явлениями ишемии и стимулировать репарацию за счет явлений неоангиогенеза и изменений в регуляции параметров микроциркуляции.

3.2 Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда на лазерное облучение зон локализации красного костного мозга

3.2.1 Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда через 1 сутки после окончания лазерного воздействия

На сроке 1 сутки относительная площадь сосудистого русла в группе динамического контроля (как с диффузным, так и с локальным повреждением) достоверно не отличалась от значений интактного миокарда (Таблица 5). При воздействии лазерного излучения на красный костный мозг животных с интактным миокардом изменений площади сосудистого русла в миокарде не отмечалось.

У животных с диффузным повреждением миокарда на первые сутки после окончания лазерного воздействия на красный костный мозг отмечалось увеличение относительной площади сосудистого русла по сравнению с группой с диффузным повреждением миокарда без воздействия лазера, при этом отличий от показателей интактного миокарда не было. Разницы между воздействием различных типов лазеров не выявлялось (Таблица 5).

В группе с локальным повреждением миокарда увеличение площади сосудистого русла было статистически не значимым. Мы связываем это с наличием у данной группы животных сосудистого полнокровия (гиперемии) в ходе воспалительного процесса из-за острого повреждения миокарда (Таблица 5).

На этом сроке исследования в группах животных, получивших лазерное воздействие на костный мозг, диаметр артерий в миокарде не менялся, но мы не встречали артерий с признаками спазма, в отличие от артерий в поврежденном миокарде животных без лазерного воздействия на красный костный мозг (Таблица 6). Это подтверждалось статистически значимым снижением индекса Керногана артерий после лазерного воздействия как в группе с диффузным, так и очаговым повреждением миокарда (Таблица 7), при этом в группах без лазерного

воздействия индекс Керногана артерий достоверно превышал показатели интактного миокарда. При воздействии лазерного излучения на красный костный мозг животных с интактным миокардом изменений характеристик артериальных сосудов в миокарде не отмечалось.

Таблица 5

Относительная площадь сосудистого русла в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на костный мозг, %.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	18,2 (13,1; 24,5)	19,3 (14,0; 25,1) p ₁ =0,754 p ₃ =0,602	20,2 (13,2; 26,4) p ₂ =0,401
диффузное повреждение миокарда	13,9 (11,1; 15,5) p ₄ =0,174	22,1 (19,4; 28,5) p ₁ =0,009 p ₃ =0,834 p ₄ =0,175	23,5 (19,1; 29,2) p ₂ =0,009 p ₄ =0,175
локальное повреждение миокарда	22,2 (18,9; 25,3) p ₄ =0,251	26,3 (19,9; 32,5) p ₁ =0,251 p ₃ =0,834 p ₄ =0,075	25,9 (20,4; 32,9) p ₂ =0,294 p ₄ =0,075

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Таблица 6

Диаметр мелких артерий (мкм) в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	12,56 (7,23; 22,55)	12,79 (7,92; 28,98) p ₁ =0,347 p ₃ =0,464	14,67 (7,71; 25,52) p ₂ =0,347
диффузное повреждение миокарда	9,66 (5,12; 12,51) p ₄ =0,251	11,9 (9,94; 21,71) p ₁ =0,147 p ₃ =0,754 p ₄ =0,754	12,45 (9,71; 26,19) p ₂ =0,250 p ₄ =0,754
локальное повреждение миокарда	9,44 (6,45; 23,11) p ₄ =0,917	15,76 (10,95;26,88) p ₁ =0,174 p ₃ =0,754 p ₄ =0,347	16,67 (12,53;26,82) p ₂ =0,174 p ₄ =0,347

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Индекс Керногана артерий (соотношение толщины стенки и диаметра сосуда) в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	0,37 (0,26; 0,38)	0,31 (0,26; 0,39) p ₁ =1,000 p ₃ =0,600	0,33 (0,27; 0,41) p ₂ =1,000
диффузное повреждение миокарда	0,49 (0,44; 0,58) p ₄ =0,028	0,30 (0,22; 0,35) p ₁ =0,009 p ₃ =0,345 p ₄ =0,174	0,32 (0,27; 0,37) p ₂ =0,009 p ₄ =0,597
локальное повреждение миокарда	0,47 (0,39; 0,57) p ₄ =0,036	0,30 (0,23; 0,36) p ₁ =0,008 p ₃ =0,751 p ₄ =0,207	0,31 (0,25; 0,35) p ₂ =0,009 p ₄ =0,347

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

При сравнении морфометрических показателей артерий не было обнаружено отличий между воздействием разных типов лазеров (Таблица 6,7).

Через сутки после окончания лазерного воздействия в миокарде с диффузным повреждением отмечалось увеличение среднего радиуса капилляров. В группе локального повреждения миокарда после лазерного воздействия на красный костный мозг не было изменений

просвета капилляров. Между воздействием различных типов лазеров достоверной разницы при этом не отмечалось. В интактном миокарде после воздействия лазерного излучения на красный костный мозг размер капилляров не менялся. При этом ни одна из групп исследования достоверно не отличалась от интактного контроля (Таблица 8).

Таблица 8

Динамика радиуса капилляров (мкм) миокарда через 1 сутки после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	3,56 (3,24; 4,87)	3,63 (3,35; 5,05) p ₁ =0,347 p ₃ =0,917	3,68 (3,57 4,99) p ₂ =0, 251
диффузное повреждение миокарда	3,34 (3,11; 3,96) p ₄ =0,347	4,02 (4,00; 5,73) p ₁ =0,046 p ₃ =0,396 p ₄ =0,173	4,22 (4,02; 5,89) p ₂ =0,028 p ₄ =0,174
локальное повреждение миокарда	3,95 (3,84; 4,99) p ₄ =0,175	4,62 (3,87; 5,92) p ₁ =0,401 p ₃ =0,917 p ₄ =0,175	4,77 (3,92; 5,41) p ₂ =0, 347 p ₄ =0,175

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Размеры мелких вен достоверно не изменялись ни в одной из групп наблюдения (Таблица 9). Индекс Керногана для вен также достоверно не изменялся (Таблица 10).

Можно сделать вывод, что изменения морфометрических характеристик сосудистого русла миокарда в первые сутки после окончания лазерного облучения костного мозга затрагивали артериальное и капиллярное звено, но не касались венозного русла.

Таблица 9

Диаметр мелких вен (мкм) в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	18,2 (14,2; 27,3)	19,4 (15,6; 29,9) p ₁ =0,345 p ₃ =0,917	20,5 (16,8; 28,7) p ₂ =0,345
диффузное повреждение миокарда	20,4 (16,2; 29,5) p ₄ =0,346	21,7 (16,7; 29,2) p ₁ =0,601 p ₃ =0,91 p ₄ =0,346	22,4 (18,9; 25,6) p ₂ =0,917 p ₄ =0,6
локальное повреждение миокарда	29,2 (21,2; 33,3) p ₄ =0,075	28,6 (25,2; 36,3) p ₁ =0,464 p ₃ =0,529 p ₄ =0,075	29,2 (24,4; 35,2) p ₂ =0,402 p ₄ =0,075

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Индекс Керногана вен (соотношение толщины стенки и диаметра сосуда) в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	0,13 (0,11; 0,25)	0,14 (0,11; 0,29) p ₁ =0,509 p ₃ =0,751	0,14 (0,11; 0,28) p ₂ =0, 599
диффузное повреждение миокарда	0,16 (0,15; 0,17) p ₄ =0,601	0,13 (0,11; 0,15) p ₁ =0,142 p ₃ =0,746 p ₄ =0,673	0,15 (0,12; 0,15) p ₂ =0, 085 p ₄ =1,000
локальное повреждение миокарда	0,14 (0,13; 0,16) p ₄ =0,916	0,11 (0,11; 0,13) p ₁ =0,128 p ₃ =0,389 p ₄ =0,589	0,15 (0,11; 0,18) p ₂ =0,316 p ₄ =0,752

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
 p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
 p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
 p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

При диффузном повреждении миокарда изменения площади сосудистого русла происходили за счет расширения посвета капилляров. При локальном повреждении миокарда прироста площади сосудистого русла не было, но в артериях уменьшалась толщина стенки.

3.2.2 Реакция сосудов микроциркуляторного русла миокарда через 10 суток после лазерного воздействия

Таблица 11

Относительная площадь сосудистого русла в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	18,2 (13,1; 24,5)	21,3 (15,1; 29,6) $p_1=0,347$ $p_3=0,917$	22,2 (16,2; 25,5) $p_2=0,401$
диффузное повреждение миокарда	14,1 (12,2; 16,8) $p_4=0,175$	22,9 (17,3; 25,5) $p_1=0,009$ $p_3=0,347$ $p_4=0,402$	23,2 (18,2; 28,4) $p_2=0,009$ $p_4=0,295$
локальное повреждение миокарда	23,2 (19,1; 26,9) $p_4=0,175$	25,1 (19,7; 32,1) $p_1=0,602$ $p_3=0,916$ $p_4=0,175$	26,1 (20,9; 30,9) $p_2=0,602$ $p_4=0,076$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

В группах животных с диффузно поврежденным миокардом на 10 сутки после окончания лазерного воздействия на красный костный мозг площадь сосудистого русла продолжала оставаться больше, чем в контроле (Таблица 11). Разные типы лазеров не отличались по эффективности влияния на этот показатель. Достоверных отличий между интактным контролем и другими группами исследования не

отмечалось. В группе с локальным повреждением миокарда не происходило увеличение содержания сосудов в ткани.

В группе лазерного воздействия с длиной волны 980 нм (диффузное повреждение миокарда) происходило увеличение диаметра артерий. В других группах исследования такой динамики не отмечалось (Таблица 12).

Таблица 12

Диаметр мелких артерий (мкм) в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на красный костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	12,56 (7,23; 12,55)	9,89 (8,93; 23,57) $p_1=0,464$ $p_3=0,0917$	10,16 (9,97; 22,95) $p_2=0,601$
диффузное повреждение миокарда	7,56 (5,21; 10,99) $p_4=0,175$	19,96 (11,14; 24,98) $p_1=0,028$ $p_3=0,601$ $p_4=0,347$	12,16 (10,72; 23,59) $p_2=0,117$ $p_4=0,464$
локальное повреждение миокарда	8,31 (7,28; 20,15) $p_4=0,675$	17,96 (12,63; 25,75) $p_1=0,174$ $p_3=0,754$ $p_4=0,251$	18,57(14,23;24,33) $p_2=0,174$ $p_4=0,175$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
 p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
 p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
 p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

На сроке 10 суток индекс Керногана артериальных сосудов в группе животных с диффузным повреждением миокарда, не получавших лазерного воздействия, оставался достоверно повышенным по сравнению с интактной группой (Таблица 13). В группе локального повреждения этот показатель возвращался к значениям интактного миокарда. При воздействии лазерного излучения на красный костный мозг животных с интактным миокардом изменений характеристик артериальных сосудов в миокарде на сроке 10 суток не отмечалось.

Таблица 13

Индекс Керногана артерий (соотношение толщины стенки и диаметра сосуда) в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	0,37 (0,26; 0,35)	0,32 (0,3; 0,33) p ₁ =0,602 p ₃ =0,600	0,35 (0,29; 0,44) p ₂ =0,916
диффузное повреждение миокарда	0,44 (0,43; 0,53) p ₄ =0,047	0,25 (0,24; 0,29) p ₁ =0,008 p ₃ =0,141 p ₄ =0,249	0,29 (0,27; 0,32) p ₂ =0,009 p ₄ =0,529
локальное повреждение миокарда	0,36 (0,22; 0,44) p ₄ =0,600	0,31 (0,26; 0,41) p ₁ =0,916 p ₃ =0,463 p ₄ =1,000	0,33 (0,23; 0,39) p ₂ =0,916 p ₄ =0,751

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

В группе с диффузным повреждением миокарда и лазерным воздействием на красный костный мозг индекс Керногана артерий достоверно снижался. В группе с локальным повреждением миокарда и лазерным воздействием отличий от контроля не наблюдалось. Разницы между воздействием разных типов лазеров по этим показателям не отмечалось (Таблица 13).

Радиус капилляров в диффузно поврежденном миокарде на 10 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг продолжал оставаться больше чем в контроле (Таблица 14). При этом в группе с локальным повреждением миокарда и лазерным воздействием на красный костный мозг достоверных отличий показателей от контроля не отмечалось. Лазеры с разной длиной волны между собой не отличались.

Диаметр мелких вен достоверно не увеличился ни одной из групп наблюдения, индекс Керногана для вен также не изменился. (Таблица 15, 16).

Таким образом, анализ морфометрических показателей сосудистого русла на 10 сутки после окончания лазерного воздействия на костный мозг свидетельствует не только об увеличении просвета капилляров, артерий и относительной площади сосудистого русла в миокарде, но и об определенных изменениях сосудистой стенки, что проявилось в уменьшении индекса Керногана для артерий. Венозные сосуды миокарда не реагировали на лазерное воздействие на костный мозг. Предположительно, имели место и процессы неоангиогенеза со стороны капилляров, так как известно, что лазерное воздействие является стимулятором сосудистого роста (Головнева Е.С., 2003). Особенно важны эти изменения для миокарда с диффузным повреждением, так как у животных с гиподинамическим стрессом спазм мышечного слоя сосудистых стенок является одной из причин усугубления ишемии миокарда. По литературным данным, у больных с

Таблица 14.

Радиус капилляров (мкм) миокарда через 10 суток после лазерного воздействия на красный костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	3,56 (3,24; 4,87)	3,61 (3,15; 4,75) p ₁ =0,464 p ₃ =0,917	3,82 (3,55; 4,44) p ₂ =0,916
диффузное повреждение миокарда	3,38 (3,51; 3,81) p ₄ =0,917	3,96 (3,44; 4,97) p ₁ =0,009 p ₃ =0,529 p ₄ =0,175	4,01 (3,84; 4,82) p ₂ =0,016 p ₄ =0,602
локальное повреждение миокарда	3,97 (3,32; 4,89) p ₄ =0,599	4,51 (3,81; 5,89) p ₁ =0,347 p ₃ =0,917 p ₄ =0,175	4,57 (3,93; 4,97) p ₂ =0,347 p ₄ =0,175

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

стрессовой кардиомиопатией в основном фиксируются изменения со стороны тонуса микроциркуляторного русла, приводящие к нарушению метаболизма миокарда и гибели кардиомиоцитов как путем некроза, так и апоптоза [Синцов Д.Л. и др., 2007].

В целом, наблюдаемые изменения микроциркуляции, связанные с реакцией артериол, могли быть вызваны повышением содержания оксида азота, который мог локально синтезироваться в миокарде благодаря тучным и стволовым клеткам [Bidri M. et al., 1997, 2001 Majka M. et al., 2001; Coleman J.W., 2002; Mintz P.G. et.al, 2014].

Активированные тучные клетки кроме оксида азота выделяют гистамин, гепарин, серотонин, фактор роста сосудистого эндотелия и фактор роста фибробластов, которые влияют на сосудистый тонус и ангиогенез, привлекают стволовые клетки в зону повреждения тканей [Козель А.И. с соавт. 1999; Кравченко Т.Г. и др., 2008; Кондашевская М.В., 2010].

Циркулирующие стволовые клетки также являются источником ряда вазоактивных пептидов. В частности iNOS, фактор роста сосудистого эндотелия, фактор роста гепатоцитов, эритропоэтин

Таблица 15

Диаметр мелких вен (мкм) в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	18,2 (14,2; 27,3)	19,1 (13,5; 25,6) p ₁ =0,463 p ₃ =0,347	20,2 (15,1; 26,2) p ₂ =0,916
диффузное повреждение миокарда	21,2 (16,5; 28,5) p ₄ =0,346	22,3 (16,4; 30,3) p ₁ =0,754 p ₃ =0,917 p ₄ =0,346	23,4 (17,1; 29,7) p ₂ =0,347 p ₄ =0,346
локальное повреждение миокарда	23,3 (20,2; 30,3) p ₄ =0,173	28,2 (24,1; 35,3) p ₁ =0,174 p ₃ =0,401 p ₄ =0,075	28,1 (22,2; 33,3) p ₂ =0,347 p ₄ =0,075

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Таблица 16

Индекс Керногана вен (соотношение толщины стенки и диаметра сосуда) в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	0,13 (0,11; 0,25)	0,16 (0,12; 0,27) p ₁ =0,462 p ₃ =0,401	0,15(0,11; 0,25) p ₂ =1, 000
диффузное стрессовое повреждение	0,16 (0,14; 0,19) p ₄ =0,916	0,11 (0,10; 0,18) p ₁ =0,208 p ₃ =0,247 p ₄ =0,344	0,14 (0,12; 0,19) p ₂ =0, 527 p ₄ =1,000
локальное лазерное повреждение	0,14 (0,13; 0,22) p ₄ =0,751	0,14 (0,11; 0,23) p ₁ =0,916 p ₃ =0,915 p ₄ =0,915	0,15 (0,12; 0,21) p ₂ =0,528 p ₄ =1,000

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

стволовых клеток могут оказывать влияние на систему микрососудов миокарда [Киселева Е.П. и др., 2009; Маслов Л.Н. и др. 2013 Majka M. et al., 2001; Mintz P.G. et.al, 2014].

Известно, что низкоинтенсивное лазерное воздействие может оказывать положительный эффект на микроциркуляцию ишемизированных тканей благодаря повышению локального синтеза сосудорасширяющих веществ сосудистой стенкой, а именно iNOS, оксида азота, простагландинов и гепарина. Кроме этого происходит

стабилизация мембран эндотелия, повышается его противосвертывающая активность, нормализуется уровень ингибитора активатора плазминогена, и таким образом улучшаются реологические свойства крови [Кулова Л.А., Бордулин Н.М., 2014; Москвин С.В., 2014].

Все эти факторы в комплексе несомненно играют важную роль в регуляции функционального состояния сосудистого русла в миокарде.

3.3 Динамика показателей лазерной доплер-флуометрии миокарда после лазерного воздействия на костный мозг.

Индекс эффективности (индекс флаксомоций) микроциркуляции, представляющий соотношение активных медленноволновых и пассивных быстроволновых регуляторных влияний был снижен в группе животных с диффузным повреждением миокарда. Видимо, это являлось свидетельством нарушения не только локальной микроциркуляции в миокарде, но и реакции всей сердечно-сосудистой системы животного на стресс, когда на фоне повышения в крови уровня катехоламинов и кортизола, вегетативные регулирующие системы не могут контролировать сосудистый тонус. Такие характеристики флаксомоций характерны для гиперемического типа микроциркуляции с формированием стаза форменных элементов в микрососудах [Козлов В.И. и др., 2012], что в нашем эксперименте по моделированию диффузной ишемии в миокарде подтверждалось морфологически наличием сладжей эритроцитов и картиной сосудистого полнокровия.

В первые сутки после окончания лазерного воздействия изменений индекса эффективности микроциркуляции мы не отметили ни в одной из групп (Таблица 17).

Индекс эффективности микроциркуляции по данным ЛДФ в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	1,95 (1,81; 2,01)	1,96 (1,78; 1,99) p ₁ =0,529 p ₃ =0,401	1,98 (1,8 2; 2,01) p ₂ =0,91
диффузное стрессовое повреждение миокарда	1,72 (1,67; 1,76) p ₄ =0,009	1,78 (1,69; 1,87) p ₁ =0,294 p ₃ =0,976 p ₄ =0,076	1,75 (1,68; 1,88) p ₂ =0,529 p ₄ =0,076
локальное лазерное повреждение миокарда	1,77 (1,69; 1,86) p ₄ =0,075	1,81 (1,72; 1,89) p ₁ =0,347 p ₃ =0,402 p ₄ =0,142	1,81 (1,69; 1,87) p ₂ =0,753 p ₄ =0,142

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

На 10 сутки после лазерного облучения достоверно увеличился индекс эффективности микроциркуляции в группах животных с локальным повреждением миокарда, у животных с диффузными повреждениями сердца достоверного роста не было (Таблица 18). Так

Индекс эффективности микроциркуляции по данным ЛДФ в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	1,97 (1,81; 1,99)	1,96 (1,91; 2,02) p ₁ =0,461 p ₃ =0,916	1,98 (1,83; 2,03) p ₂ =0,529
диффузное стрессовое повреждение миокарда	1,77 (1,69; 1,87) p ₄ =0,076	1,83 (1,73; 2,19) p ₁ =0,402 p ₃ =0,334 p ₄ =0,917	1,82 (1,74; 1,99) p ₂ =0,347 p ₄ =0,401
локальное лазерное повреждение миокарда	1,77 (1,69; 1,84) p ₄ =0,075	1,92 (1,85; 2,96) p ₁ =0,008 p ₃ =0,751 p ₄ =0,463	1,87 (1,86; 2,93) p ₂ =0,009 p ₄ =0,464

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

как индекс эффективности микроциркуляции является соотношением частотно - амплитудных характеристик спектра ЛДФ-граммы, можно полагать, что в локально поврежденном миокарде после лазерного воздействия на костный мозг наблюдалось повышение амплитуды низкочастотных (VLF- и LF-колебаний) и уменьшение амплитуды высокочастотных (HF- и CF-колебаний). Это свидетельствовало об усилении активных вазомоторных механизмов регуляции микроциркуляции [Козлов В.И. и др., 2012]. Можно предположить, что по мере восстановления структуры ткани миокарда в случае локального

повреждения, нормализуются механизмы регуляции сосудистого тонуса, в частности появляется возможность симпатической регуляции флукса микроциркуляции [Мчедlishvili Г.И., 1995; Крупаткина А.И., Сидорова В.В., 2005]. Если соотносить эти данные с морфометрией сосудистого русла, то обращает на себя внимание разнонаправленность изменений, происходящих в процессе репарации миокарда с диффузным и локальным повреждением после лазерного воздействия на костный мозг. При диффузном повреждении приоритетно изменялись морфометрические характеристики сосудов, связанные с площадью сосудистого русла, а при очаговом – функциональные. Так как диффузное повреждение в нашей модели является проявлением хронического стресса, это могло быть обусловлено вегетативным дисбалансом, проявляющимся стрессовой десенситизацией, либо наоборот - сенситизацией адрено-рецепторов [Филиппова Т.В. и др., 2012]. Локальное повреждение не затрагивало регуляторные процессы в окружающем миокарде, но более грубо повреждало структуры ткани, нарушения микроциркуляции были связаны с разрушением архитектоники микрососудистого русла.

Показатель микроциркуляции в группах животных с поврежденным миокардом не менялся относительно интактного сердца. После лазерного облучения красного костного мозга уже с первых суток начиналось его достоверное уменьшение в группе животных с диффузным повреждением миокарда. Отличий между эффектами воздействия лазеров с разной длиной волны на этом сроке не выявлялось (Таблица 19). В группе с локальным повреждением миокарда на 1 сутки этот показатель не менялся.

Показатель микроциркуляции в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг по данным лазерной доплер-флуометрии (п.е.)

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	2,08 (1,79; 3,03)	2,15 (1,85; 3,00) p ₁ =0,916 p ₃ =0,917	2,14 (1,77; 3,31) p ₂ =0,754
диффузное стрессовое повреждение миокарда	2,81 (2,57;3,65) p ₄ =0,175	2,37 (1,87; 2,45) p ₁ =0,017 p ₃ =0,754 p ₄ =0,754	2,36 (2,17; 2,51) p ₂ =0,047 p ₄ =0,601
локальное лазерное повреждение миокарда	2,92 (2,34; 3,98) p ₄ =0,175	2,42 (2,21; 3,39) p ₁ =0,917 p ₃ =0,754 p ₄ =0,251	2,51 (2,19; 3,27) p ₂ =0,464 p ₄ =0,174

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

На 10 сутки после окончания лазерного облучения показатель микроциркуляции снижался не только группе с диффузным повреждением миокарда, но и у животных с очаговым повреждением (Таблица 20). Наблюдаемая динамика показателя микроциркуляции могла свидетельствовать об увеличении вклада капиллярного кровотока, с более низкой линейной скоростью [Крупаткина А.И., Сидорова В.В., 2005]. При сопоставлении с морфометрическими показателями это

подтверждается увеличением относительной площади сосудистого русла и повышением радиуса капилляров.

Таблица 20

Показатель микроциркуляции в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на костный мозг по данным лазерной доплер-флуометрии (п.е.)

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	2,08 (1,79; 3,03)	2,24 (1,85; 3,01) p ₁ =0,834 p ₃ =0,917	2,14 (1,75; 3,54) p ₂ =0,834
диффузное стрессовое повреждение миокарда	2,72 (2,57;3,59) p ₄ =0,173	2,22 (2,17; 3,05) p ₁ =0,028 p ₃ =0,917 p ₄ =0,754	2,27 (2,19; 3,11) p ₂ =0,009 p ₄ =0,601
локальное лазерное повреждение миокарда	2,65 (2,54; 3,58) p ₄ =0,173	2,35 (2,01; 2,41) p ₁ =0,009 p ₃ =0,601 p ₄ =0,917	2,32 (2,09; 2,36) p ₂ =0,009 p ₄ =0,754

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

3.4 Реакция тучных клеток миокарда на лазерное облучение красного костного мозга

3.4.1. Реакция тучных клеток миокарда через 1 сутки после лазерного облучения

В стимуляции и регуляции процессов неонагиогенеза в неповрежденной и ишемизированной ткани традиционно лидирующее место принадлежит тучным клеткам [Юшков Б.Г., Климин В.Г., Арташян О.С., 2006; Головнева Е.С., 2003; Somasundaram P. et.al. 2005; Erelman S., 2012], поэтому особенности реакции миокардиальных тучных клеток на лазерное облучение мы рассмотрим далее.

Таблица 21.

Индекс дегрануляции тучных клеток в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг, %.

	До лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	26,8 (22,3; 29,4)	26,5 (23,1; 28,4) p ₁ =0,834 p ₃ =1,000	25,9 (23,1; 27,2) p ₂ =0,917
диффузное стрессовое повреждение миокарда	31,5 (28,1; 35,1) p ₄ =0,117	32,3 (30,1; 37,9) p ₁ =0,464 p ₃ =0,917 p ₄ =0,047	32,1 (31,3; 36,4) p ₂ =0,464 p ₄ =0,027
локальное лазерное повреждение миокарда	38,6 (31,1; 42,3) p ₄ =0,028	39,3 (34,1; 45,8) p ₁ =0,347 p ₃ =0,347 p ₄ =0,009	39,2 (31,5; 43,9) p ₂ =0,601 p ₄ =0,016

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Индекс дегрануляции тучных клеток у животных с локально поврежденным миокардом был выше, чем в интактном сердце, (Таблица 21). Острое повреждение миокарда является триггерным моментом в развитии ответа тучных клеток и локального воспаления. Известно, что продукты клеток нейтрофильного ряда, такие как активные радикалы кислорода, цитокины и ферменты стимулируют выход гранул мастоцитов. Макрофаги, выделяя провоспалительные ИЛ 1 β , 6, 8, фактор некроза опухолей, способствуют дегрануляции тучных клеток. Компоненты комплимента C3a, C5a также являются классическими стимуляторами дегрануляции [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001; Арташян О.С. и др., 2006; Levick S.P., 2011]. При диффузном повреждении миокарда увеличения индекса дегрануляции не наблюдалось. По данным литературы, при моделировании хронического стресса в первые дни эксперимента отмечается интенсивная дегрануляция мастоцитов, с индексом, приближающимся к 50-60%, а через месяц наблюдений этот показатель значительно снижается [Синцов Д.Л. и др., 2007].

На сроке 1 сутки мы не обнаружили достоверной разницы индекса дегрануляции миокардиальных тучных клеток в группах животных, получавших и не получавших лазерное воздействие на красный костный мозг (Таблица 21).

Количество тучных клеток в поврежденном миокарде по нашим данным достоверно не отличалось от значений интактного миокарда (Таблица 22). Мы связываем это с большим разбросом показателей в экспериментальных группах, хотя по данным литературы при экспериментальном инфаркте миокарда количество мастоцитов в ткани сердца увеличивается [Ерохина И.Л. и др., 2006; Levick S.P. 2011]. На возможности миграции тучных клеток сердечно-сосудистой системы значительное влияние оказывает ренин-ангиотензиновая система, чрезмерная активность которой тормозит их хоуминг в миокард

[Ерохина И.Л. и др., 2009]. Возможно, это объясняет отсутствие увеличения количества тучных клеток в группе с диффузным повреждением миокарда.

Таблица 22.

Количество тучных клеток в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг, ед/поле зрения, ув. 400.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	5,83 (5,03; 6,55)	5,91 (5,43; 6,82) p ₁ =0,347 p ₃ =0,464	5,71 (5,35; 6,23) p ₂ =0,675
диффузное стрессовое повреждение миокарда	6,58 (5,44; 7,27) p ₄ =0,402	6,73 (5,33; 8,08) p ₁ =0,602 p ₃ =0,91 p ₄ =0,250	6,71 (5,27; 8,55) p ₂ =0,602 p ₄ =0,250
локальное лазерное повреждение миокарда	7,21 (5,76; 8,11) p ₄ =0,174	7,27 (5,61; 8,73) p ₁ =0,754 p ₃ =0,917 p ₄ =0,174	7,22 (5,83; 8,56) p ₂ =0,464 p ₄ =0,142

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

На 1 сутки количество мастоцитов в поврежденном миокарде в группах животных получавших и не получавших лазерное воздействие на костный мозг статистически достоверно не менялось (Таблица 22).

Интегральная оптическая плотность, являющаяся мерой гранулярной насыщенности тучных клеток и содержания в них биологически активных веществ, в группах животных с повреждением

миокарда не отличалась от интактного контроля. После лазерного воздействия на красный костный мозг этот показатель достоверно еще снижался в группах с повреждением миокарда, но не в контрольной интактной группе (Таблица 23). Между различными типами лазеров отличий не наблюдалось.

Таблица 23

Интегральная оптическая плотность тучных клеток в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг, усл. ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	10640 (8346; 12579)	9444 (8541; 10200) $p_1=0,601$ $p_3=0,465$	9672 (8483; 9475) $p_2=0,601$
диффузное стрессовое повреждение миокарда	8946 (8132; 10342) $p_4=0,464$	7852 (6539; 8085) $p_1=0,009$ $p_3=0,602$ $p_4=0,028$	7877 (6498; 8047) $p_2=0,009$ $p_4=0,028$
локальное лазерное повреждение миокарда	8653 (8245; 10348) $p_4=0,464$	7439 (7121; 8171) $p_1=0,028$ $p_3=0,464$ $p_4=0,047$	7443 (6835; 7583) $p_2=0,017$ $p_4=0,028$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
 p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
 p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
 p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Анализируя этот срок эксперимента, можно сделать вывод, что признаков непосредственного влияния лазерного облучения на тучные клетки миокарда, которое могло бы проявиться в виде изменения экзоцитоза гранул, в первые сутки мы не обнаружили. Но изменение оптических характеристик тучных клеток свидетельствует об активности мерокринового типа секреции, происходящего в ответ на разнообразные внешние стимулы. В литературе описано как одновременное наличие двух типов секреции биологически активных веществ у мастоцитов, так и наблюдения изолированного процесса мерокриновой секреции у животных с гиподинамическим стрессом и воспалением. [Мухлынина Е.А., Юшков Б.Г., 2013; Azouz N.P. et.al., 2015]. Известно, что липидные медиаторы: простагландины, тромбоксаны и лейкотриены, могут выделяться во внеклеточный матрикс без видимой дегрануляции тучных клеток. Благодаря периваскулярному расположению ТК, их липидные медиаторы усиливают проницаемость сосудистых стенок, индуцируют экспрессию адгезивных молекул на эндотелии и лейкоцитах, оказывают хемотаксическое влияние на лейкоциты. Также, по мерокриновому типу, тучной клеткой могут секретироваться цитокины, не связанные с гепарансульфатами и оказывающие влияние на пролиферацию и ангиогенез [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2001; Мухлынина Е.А., Юшков Б.Г., 2013].

3.4.2. Реакция тучных клеток миокарда через 10 суток после окончания лазерного облучения

На 10 сутки индекс дегрануляции тучных клеток в интактном миокарде после воздействия лазером на красный костный мозг не менялся.

В группе с диффузно поврежденным миокардом индекс дегрануляции через 10 суток после окончания лазерного воздействия на

костный мозг был достоверно выше, чем у животных, не подвергавшихся воздействию лазера (Таблица 24). На этом сроке эксперимента реакция тучных клеток могла являться отражением таких репаративных процессов как перестройка и ретракция соединительной ткани, а также неоангиогенез.

Таблица 24

Индекс дегрануляции тучных клеток в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на красный костный мозг, %.

	До лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучения 670 нм
интактный миокард	26,8 (22,3; 29,4)	27,6 (24,1; 29,8) p ₁ =0,675 p ₃ =0,083	26,8 (25,4; 27,9) p ₂ =0,916
диффузное стрессовое повреждение миокарда	31,5 (28,1; 35,1) p ₄ =0,075	35,9 (35,2; 38,7) p ₁ =0,047 p ₃ =0,293 p ₄ =0,009	38,1 (36,6; 39,1) p ₂ =0,047 p ₄ =0,009
локальное лазерное повреждение миокарда	38,6 (31,1; 42,3) p ₄ =0,028	42,3 (40,2; 45,3) p ₁ =0,047 p ₃ =0,602 p ₄ =0,009	44, 2 (41,5; 45,9) p ₂ =0,047 p ₄ =0,009

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Известно, что после угасания острого воспаления тучные клетки становятся главным источником факторов роста, необходимых для пролиферации сосудистого эндотелия в ткани. Другой важной составляющей неоангиогенеза и репарации тканей является достаточная

ферментная активность, обеспечивающая миграцию клеток [Головнева Е.С.. 2003; Юшков Б.Г. и др., 2011].

Тучные клетки являются продуцентами фактора роста сосудистого эндотелия, фактора роста фибробластов, металлопротеиназ, а благодаря синтезу химазы - активаторами плазминовых протеаз. [Nienartowicz A. et al., 2006; Okayama, Y., 2006].

На 10 сутки происходило равномерное увеличение количества дегранулирующих клеток с разной степенью дегрануляции (от 1-2 гранул за пределами клетки до тотального выхода гранул), поэтому можно сделать вывод, что стимул, вызвавший дегрануляцию, был умеренной интенсивности. Известно, что физические факторы, такие как высокая или низкая температура, механическое, прямое лазерное воздействие на ткани вызывают резкое увеличение количества клеток с максимальной дегрануляцией, тогда как при обычном состоянии ткани тучные клетки выделяют не более десятка гранул за пределы клетки [Головнева Е.С., 2003].

Количество мастоцитов на 10 сутки после лазерного облучения достоверно увеличилось в группах животных с поврежденным миокардом (Таблица 25). В группах животных с интактным миокардом лазерное воздействие на красный костный мозг не вызывало повышения дегрануляции тучных клеток.

Данные об увеличении содержания тучных клеток в миокарде, по нашему мнению, являются косвенным признаком успешно протекающих процессов репарации. Потенциальные механизмы этого увеличения – рекрутинг гематopoэтических клеток-предшественников, созревание незрелых резидентных клеток и пролиферация резидентных клеток [Ерохина И.Л. и др., 2006; Forman M.F. et al., 2006; Levick S.P. et al., 2011; Li J. 2012]. Клетки лейкоцитарного ряда и мастоциты, уже присутствующие в зонах повреждения, выделяют хемоаттрактанты для новых мастоцитов, в результате они мигрируют не только из соседних

тканей, но и из крови и костного мозга [Ерохина И.Л. и др., 2006, 2009; Somasudaram et.al., 2005].

Таблица 25.

Количество тучных клеток в миокарде через 10 суток после лазерного воздействия на красный костный мозг, ед/поле зрения, ув. 400.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	5,83 (5,13; 6,55)	6,13 (5,84; 6,71) p ₁ =0,347 p ₃ =0,917	6,21 (5,25; 6,76) p ₂ =0,599
диффузное стрессовое повреждение миокарда	6,08 (5,34; 6,27) p ₄ =0,174	7,23 (6,89; 8,34) p ₁ =0,016 p ₃ =0,917 p ₄ =0,028	7,91 (6,37; 8,95) p ₂ =0,047 p ₄ =0,075
локальное лазерное повреждение миокарда	6,21 (5,76; 6,61) p ₄ =0,464	7,37 (6,21; 8,91) p ₁ =0,009 p ₃ =0,464 p ₄ =0,009	7,69 (6,81; 8,87) p ₂ =0,009 p ₄ =0,009

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Механизмы миграции мастоцитов в тканях и увеличение их количества на единице площади исследователи до сих пор объясняют по-разному. Имеется точка зрения, что предшественники тучных клеток попадают из крови в ткани через неповрежденную сосудистую стенку и уже в тканях приобретают специфические маркеры мастоцитов. Другая точка зрения состоит в том, что в ткани попадают уже дифференцированные тучные клетки из соседних областей и из

кровотока. В любом случае хемоаттрактантами для тучных клеток являются: ламинин, компоненты комплемента, интерлейкины 3, 4, 5, фактор стволовых клеток, трансформирующий фактор роста β , фактор роста сосудистого эндотелия, основной фактор роста фибробластов, фактор роста тромбоцитарного происхождения, инсулиноподобный фактор роста. Эти цитокины появляются в очаге воспаления и выделяются не только клетками воспалительного инфильтрата, но и самими тучными клетками. Стволовые клетки также являются источниками вышеперечисленных хемоаттрактантов. Основным фактором, который способствует и непосредственно стимулирует пролиферацию и развитие тучных клеток, является фактор стволовых клеток (ФСК). ФСК и/или его растворимая форма является хемотаксическим фактором для тучных клеток и их предшественников. ФСК не только вызывает адгезию тучных клеток к другим клеткам и компонентам экстрацеллюлярного матрикса, но также содействует их пролиферации, поддерживает их дифференцировку, созревание и функционирование [Кондашевская Е.А., 2010, Юшков Б.Г., 2013].

Обращало на себя внимание значительное снижение интегральной оптической плотности тучных клеток, выраженное во всех группах наблюдения, включая интактный миокард (Таблица 26).

Таким образом, на 10 сутки после окончания лазерного воздействия на костный мозг реакция тучных клеток поврежденного миокарда проявляется в усилении дегрануляции, снижении оптической плотности и увеличении количества. Подобных изменений не наблюдается в интактном миокарде и поврежденном миокарде животных группы контроля. Можно сделать вывод, что лазерное воздействие на костный мозг активирует достаточно специфичную реакцию тучных клеток, необходимую для успешной репарации миокарда.

Динамика интегральной оптической плотности тучных клеток в миокарде после 10 суток лазерного воздействия на красный костный мозг, усл. ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	10640 (8346; 12579)	8891 (8237; 10748) $p_1=0,347$ $p_3=0,465$	8977 (8291; 9947) $p_2=0,347$
диффузное стрессовое повреждение миокарда	8946 (8132; 10342) $p_4=0,464$	7243 (6831; 7372) $p_1=0,009$ $p_3=0,602$ $p_4=0,009$	7462 (6042; 7724) $p_2=0,009$ $p_4=0,016$
локальное лазерное повреждение миокарда	8653 (8245; 10348) $p_4=0,464$	7939 (6931; 8072) $p_1=0,016$ $p_3=0,754$ $p_4=0,047$	7541 (6811; 7943) $p_2=0,016$ $p_4=0,028$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

По данным литературы при инфаркте миокарда ТК играют важную роль в замещении погибших кардиомиоцитов. Выделяемые ТК факторы роста стимулируют пролиферативную активность клеток миокарда [Entman M.L. et al., 2000; Somasundaram P. et al., 2005]. С другой стороны, продуцируемые ТК цитокины и факторы роста, такие

как оФРФ, ФРСЭ, ТФР и др., способствуют не только ревазуляризации поврежденной ткани, но и привлечению в зону формирования рубца фибробластов. Это предположение согласуется с данными о концентрации ТК в зонах экспрессии PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) при инфаркте миокарда [Frangogiannis N.G. et al., 1998; Entman M.L. et al., 2000; Ren G. et al., 2003; Somasundaram P. et al., 2005]. По нашим данным, усиление активности миокардиальных тучных клеток после лазерного воздействия на красный костный мозг у животных с повреждением миокарда приводило к положительным репаративным изменениям - уменьшению площади ишемических изменений и соединительной ткани, росту площади сосудистой сети и улучшению функциональных характеристик сосудистого русла. CD34⁺/45⁺

3.5. Динамика экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) в миокарде после лазерного воздействия на красный костный мозг.

Экспрессия VEGF в поврежденном миокарде достоверно не превышала показатели интактного миокарда (Таблица 27).

В поврежденном миокарде VEGF визуализировался как внутри-, так и внеклеточно (Рисунок 9, 10). Наибольшую экспрессию VEGF мы наблюдали в эндотелиальных клетках мелких кровеносных сосудов. Положительная реакция также фиксировалась в лейкоцитах и тучных клетках, инфильтровавших область лазерного очага, отмечалась в области базальных мембран, в рыхлой соединительной ткани, окружающей образующиеся сосуды.

Лазерное облучение костного мозга приводило к повышению экспрессии VEGF в поврежденном миокарде, отмечаемой на 1 сутки и 10 суток (Таблица 27, 28) как в группе с диффузным повреждением, так и с локальным очагом. При этом статистически достоверных отличий в экспрессии этого фактора роста при воздействии разных лазеров не отмечалось. В группе животных с интактным миокардом и воздействием лазера на костный мозг изменений в экспрессии VEGF не наблюдалось.

Известно, что ишемия тканей приводит к стимуляции продукции VEGF через HIF-1, однако на практике вырабатываемого VEGF обычно недостаточно для обеспечения компенсации дефицита кровоснабжения ростом новой сосудистой сети. Привлечение в зону ишемии миокарда клеток-источников VEGF позволяет решить эту проблему.

По данным литературы значимыми источниками этого фактора роста являются циркулирующие стволовые клетки, причем как гемопоэтические, так и мезенхимальные. [Yang Y., Chen Q.H., Liu A.R., 2015].

Тучные клетки также выступают источником VEGF, который может выделяться как при экзоцитозе гранул, так и мерокринно в ответ

на внешние воздействия и цитокиновую стимуляцию. [Киселева Е.П. и др., 2009; Theohdrides T.C. et.al. 2010]. Кроме этого, в зоне повреждения ткани синтезировать VEGF могут активированные макрофаги и эндотелиальные клетки [Головнева Е.С., 2003]. Таким образом, при репарации миокарда тканевой пул этого фактора роста может формироваться благодаря деятельности множества клеточных сообществ.

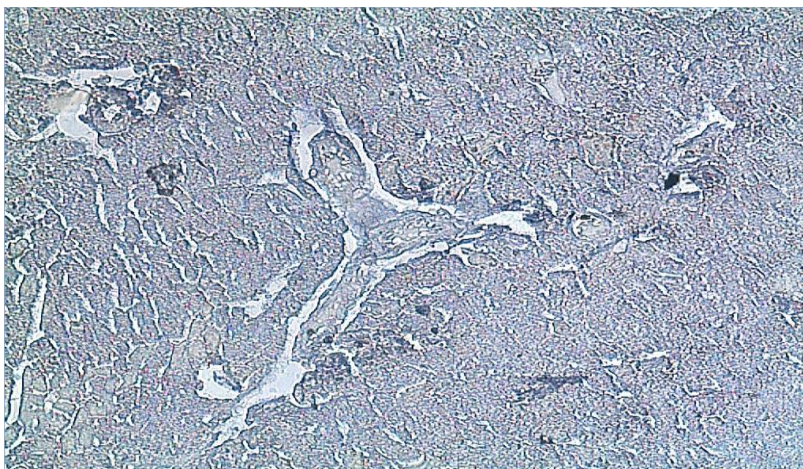


Рисунок 9. Экспрессия VEGF в миокарде с диффузным повреждением, 10-е сутки (без лазерного воздействия на костный мозг) иммуногистохимическая реакция, ув. х 200.



Рисунок 10. Экспрессия VEGF в миокарде с диффузным повреждением, 10-е сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг (980 нм), иммуногистохимическая реакция, ув. х 200.

Экспрессия VEGF в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг, усл.ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	11,6 (7,8; 15,1)	14,4 (9,6; 19,9) p ₁ =0,347 p ₃ =0,917	14,5 (9,9; 19,4) p ₂ =0,347
диффузное стрессовое повреждение	16,1 (11,5; 18,3) p ₄ =0,175	29,2 (19,9; 36,1) p ₁ =0,009 p ₃ =0,834 p ₄ =0,009	25,1 (20,1; 33,5) p ₂ =0,009 p ₄ =0,009
локальное лазерное повреждение	17,1 (13,1; 18,8) p ₄ =0,076	29,8 (21,6; 39,9) p ₁ =0,009 p ₃ =0,347 p ₄ =0,009	25,5 (20,9; 39,4) p ₂ =0,009 p ₄ =0,009

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

По литературным данным известно, что для индукции сосудистого роста необходимо соблюдение двух основных условий. В зоне образования нового сосуда должна быть достигнута адекватная концентрация факторов роста и их рецепторов, что усиливает пролиферативную активность эндотелиальных и гладкомышечных клеток, их миграцию и способности к дифференцировке. Для обеспечения процесса миграции клеток, необходима активация ряда протеолитических ферментов, обеспечивающая разрушение контактов

Экспрессия VEGF в миокарде после 10 суток лазерного воздействия на красный костный мозг, усл.ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	14,6 (10,2; 15,6)	15,1 (10,3; 17,2) p ₁ =0,294 p ₃ =0,317	14,9 (9,7; 16,8) p ₂ =0,347
диффузное стрессовое повреждение	15,7 (14,7; 18,4) p ₄ =0,075	28,3 (21,3; 35,3) p ₁ =0,009 p ₃ =0,916 p ₄ =0,009	25,2 (19,2; 38,4) p ₂ =0,009 p ₄ =0,009
локальное лазерное повреждение	16,2 (11,3; 19,1) p ₄ =0,174	25,5(19,8; 32,7) p ₁ =0,009 p ₃ =0,347 p ₄ =0,009	27,4 (20,1; 35,4) p ₂ =0,009 p ₄ =0,009

p₁-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм

p₂-между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм

p₃-между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм

p₄-между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

клеток между собой, с базальными мембранами. При этом фактор роста сосудистого эндотелия является главным регулятором процессов взаимодействия ферментов и других факторов роста в процессе неоангиогенеза [Головнева Е.С., 2003; Theoharides T.C. et.al., 2010; Ekström K. et.al., 2012]. Так, взаимодействие VEGF с основным фактором роста фибробластов носит синергичный характер. FGF-2 способен индуцировать экспрессию клеточных рецепторов для VEGF, в то время как VEGF стимулирует синтез клетками FGF-2 [Gaber M.A. et.al., 2014]. Фактор роста сосудистого эндотелия является более

специфичным по своему действию цитокином, чем другие факторы роста. Несмотря на широкий круг клеток, в том числе стволовые клетки и мастоциты, которые могут его синтезировать, активация митотических возможностей под действием VEGF затрагивает только эндотелий и гладкие мышцы сосудов [Theoharides T.C. et.al., 2010; Ekström K. et.al., 2012].

Важным свойством VEGF является повышение сосудистой проницаемости, присутствие VEGF провоцирует выход составляющих плазмы во внеклеточный матрикс и активацию процессов свертывания и фибринолиза, формирующих необходимую ферментную базу (плазминзависимый протеолиз) для неоангиогенеза в зонах поврежденных тканей. Также известно, что VEGF воздействует на синтетические возможности как эндотелиальных, так и гладкомышечных сосудистых клеток, в том числе по производству ими активаторов пламиногена и матриксных металлопротеиназ в культуре [Jimenez-Andrade G.Y. et.al., 2013; Kim S et.al., 2013]. VEGF предотвращает апоптоз различных клеток, особенно эндотелиальных, противодействует про-апоптотическим эффектам TNF- α , который выделяется в зонах повреждения тканей [Kim S et.al., 2013].

3.6. Динамика активности матриксных металлопротеиназ в миокарде после лазерного воздействия на красный костный мозг.

Активность желатиназ в локально поврежденном миокарде изначально была закономерно выше, чем в интактном (Таблица 29). Зона острого воспаления с первых минут является местом притяжения нейтрофилов и макрофагов, выделяющих достаточное количество

Таблица 29

Активность желатиназ в миокарде через 1 сутки после лазерного воздействия на красный костный мозг, усл.ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	145,6 (136,8;152,4)	149,4 (137,6;159,9) $p_1=0,464$ $p_3=0,601$	148,5 (139,9;163,4) $p_2=0,401$
диффузное стрессовое повреждение	165,9 (149,5;178,3) $p_4=0,117$	189,2 (184,2;193,1) $p_1=0,009$ $p_3=0,528$ $p_4=0,009$	185,6 (180,1;193,1) $p_2=0,009$ $p_4=0,009$
локальное лазерное повреждение	172,9 (167,1;182,3) $p_4=0,009$	189,4 (185,6;192,1) $p_1=0,009$ $p_3=0,529$ $p_4=0,009$	190,5 (185,9;199,6) $p_2=0,009$ $p_4=0,009$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
 p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
 p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
 p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

ферментов. Молодые формы фибробластов и разнообразные клетки иммунной системы также вносят свой вклад в общую ферментную активность очага повреждения. Желатинолитические ферменты необходимы как для перестройки структур поврежденной ткани, так и для миграции клеток соединительной ткани и сосудистых стенок при неоангиогенезе [Головнева Е.С., 2003; Tyagu S. 2001].

Лазерное облучение красного костного мозга приводило к повышению желатинолитической активности в поврежденном миокарде, отмечаемой на 1 сутки и 10 сутки (Таблица 29, 30).

Активность протеаз примерно одинаково изменялась как при диффузном, так и при локальном повреждении. Отличий между воздействием разных лазеров не обнаруживалось. На всех сроках исследования ферментная активность в поврежденном миокарде после лазерного воздействия на красный костный мозг была выше чем в интактном миокарде без лазерного воздействия. Лазерное воздействие на красный костный мозг у животных с интактным миокардом не вызывало повышения ферментной активности.

Видимо после лазерного воздействия на красный костный мозг в поврежденном миокарде создавалась достаточная концентрация клеточных источников протеолитических ферментов.

По литературным данным известно, что клетки сосудистого эндотелия и сосудистые гладкомышечные клетки в обычных условиях могут производить ММП 2 (желатиназы А), а при внешней стимуляции цитокинами - (желатиназы В). Тучные клетки в своих гранулах содержат проэнзимы ММП 2 и ММП 9. Проколлагеназы, как известно, не обладают литической активностью, однако показано, что химаза - сериновая протеаза, содержащаяся в мастоцитах - способна активировать эти ферменты при совместном выделении во внеклеточный матрикс. Таким образом, процесс дегрануляции тучных клеток оказывает прямое регуляторное воздействие на локальный

протеолиз. Синтез мРНК металлопротеиназ контролируется фактором роста тучных клеток, синтезируемым фибробластами и стволовыми клетками [Galli S.J. , 2000; Frossi B. et.al., 2004].

Таблица 30

Динамика активности желатиназ в миокарде. 10 суток после лазерного воздействия на красный костный мозг, усл.ед.

	Без лазерного воздействия	Лазерное облучение 980 нм	Лазерное облучение 670 нм
интактный миокард	145,6 (136,8;152,4)	139,1 (132,4;157,1) $p_1=0,916$ $p_3=0,347$	142,6 (134,7;161,2) $p_2=0,916$
диффузное стрессовое повреждение	155,8 (145,7;181,3) $p_4=0,117$	185,1 (183,3;198,2) $p_1=0,009$ $p_3=0,916$ $p_4=0,009$	190,2 (189,2;196,2) $p_2=0,009$ $p_4=0,009$
локальное лазерное повреждение	169,9 (154,3;179,9) $p_4=0,012$	184,1 (180,7;192,3) $p_1=0,028$ $p_3=0,600$ $p_4=0,009$	185,9 (180,3;190,4) $p_2=0,028$ $p_4=0,009$

p_1 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 980 нм
 p_2 -между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием 670 нм
 p_3 -между группами с лазерным воздействием 980 и 670 нм
 p_4 -между группой интактного контроля и группами с повреждением миокарда

Стимулированные макрофаги синтезируют интерстициальную коллагеназу, стромелизин и ММП 9, фибробласты способны синтезировать ММП 2 и ММП 9. Важнейшими активаторами латентных

форм ферментов могут являться активные формы кислорода и протеазы системы плазмина, содержание которого увеличивается в поврежденных тканях [Головнева Е.С., 2003; Lofredo S. et.al., 2014].

Стволовые клетки также производят протеазы системы плазмина и ММП 2 и 9, что позволяет им успешно преобразовывать окружающую матрикс [Hatzistergos K.E. et.al., 2010, Lofredo S. et.al., 2014].

Протеолиз различных субстратов сопровождается сосудистый рост и преобразование тканей при репарации. Факторы роста работают синергично с протеолитическими ферментами, так как с одной стороны происходит ферментная активация их депонированных форм, а с другой - факторы роста являются стимуляторами синтеза ферментов и их рецепторов. В нашей работе мы выявили усиление ферментной активности и повышения экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия на одних и тех же сроках, причем только в поврежденных тканях. В интактном миокарде не было отмечено таких реакций, видимо это объясняется отсутствием в неповрежденной ткани стимулов, вызывающих хоуминг стволовых, тучных клеток и других пришлых клеток –источников факторов роста и ферментов.

3.7. Динамика содержания CD34⁺/45⁺ клеток в пробах периферической крови больных инфарктом миокарда после лазерного облучения зон локализации красного костного мозга.

Исследования (2007-2008гг) по изучению миграции CD34⁺ клеток из красного костного мозга, проводились на пробах периферической крови пациентов с ишемической болезнью сердца, получавших лазерную терапию с длиной волны 980 нм на области крестца, позвоночника и подвздошных костей. Через 1 час после воздействия происходило увеличение содержания этих клеток в крови не менее чем в 2-3 раза (Таблица 31.). У 50% больных наблюдалось увеличение содержания CD34⁺ клеток до 10 раз. Например, у больной Ш. до воздействия содержание CD34⁺ клеток было 0,03%, после воздействия 0,34%. Спустя 10 суток после окончания лазерной терапии (больные получали 7 сеансов ежедневно) статистически достоверных отличий содержания CD34⁺ клеток в периферической крови от исходных показателей не отмечалось. Однако у некоторых больных, с исходно низким содержанием CD34⁺ клеток (до 0,05%) этот показатель оставался значительно выше исходного значения.

Ранее в работах, выполненных на базе Челябинского государственного института лазерной хирургии, было показано влияние лазерного облучения позвоночника, крестца и подвздошных костей на повышение содержания CD 34⁺ клеток в крови пациентов с заболеваниями периферических сосудов и критической ишемии конечностей (Головнева Е.С., 2007; Гужина А.О., 2008). На фоне системной среднеинтенсивной лазерной терапии происходило 3-4 кратное увеличение содержания CD 34⁺ клеток, у больных улучшалось самочувствие, увеличивалась дистанция безболевого ходьбы, исчезали ночные боли и боли в конечностях в покое. Эти данные послужили основой для разработки способа лечения сосудистых заболеваний и получения патента РФ на способ стимуляции выхода стволовых клеток в

периферическую кровь. В отличие от этого исследования, где усиление миграции стволовых клеток под действием лазера наблюдалось при хроническом заболевании, представляемые в нашей работе результаты получены у пациентов с острым заболеванием. Это доказывает широкие возможности лазерной стимуляции выхода стволовых клеток из костного мозга, даже в ситуациях, когда есть острое повреждение ткани, являющееся естественным триггером миграции стволовых клеток.

Таблица 31.

Динамика содержания CD34⁺/45⁺ клеток в периферической крови после лазерного облучения зон локализации костного мозга.

	N, количество проб крови	Содержание CD34 ⁺ клеток, %	P, в сравнении с контролем (критерий Вилкоксона)
Контроль (до лазерного воздействия)	15	0,09 (0,03;0,12)	
Через 1 час после лазерного воздействия	15	0,18 (0,09;0,35)	P=0,009
Через 10 суток после окончания лазерной терапии	7	0,15 (0,06; 0,19)	P=0,079

Базой получаемого эффекта является комплекс изменений в костном мозге под действием лазера. Известно, что перестраивается микроокружение стволовых клеток, благодаря активации дегрануляции тучных клеток красного костного мозга происходит изменение

локальной микроциркуляции с увеличением площади сосудистого русла и проницаемости сосудистых стенок, повышение местной протеолитической активности [Кравченко Т.Г., Головнева Е.С., 2008]. Видимо при этом меняются адгезивные взаимодействия клеток костного мозга, сосудистых стенок и матрикса, что существенно облегчает миграцию клеток.

Хотя полученные нами результаты мы связываем, прежде всего, с усилением миграции стволовых клеток CD34⁺/45⁺ из костного мозга в периферическую кровь при лазерном воздействии, но повышение миграции из костного мозга предположительно должно усиливать пролиферацию оставшихся клеток.

Существуют данные об усилении пролиферации под влиянием лазерного облучения клеток костного мозга в культуре. Первоначально было показано влияние диапазона волн длины 600-700 нм, соответствующее красному свету, затем и другие длины волн (804 нм, 970, 980 нм) доказали свою перспективность в предотвращении апоптоза и усилении деления в культурах клеток [Garavello I. et. al. 2004; Oron U., 2011]. Однако данных о непосредственном влиянии лазерного излучения на клеточный состав костного мозга *in vivo*, в частности об изменении содержания клеток различных кроветворных ростков и недифференцированных стволовых клеток в доступной литературе мы не обнаружили.

Является ли усиление под действием лазерного излучения миграции из красного костного мозга клеток с маркерами CD34⁺/45⁺ решающим фактором для усиления репаративных процессов в поврежденном миокарде на сегодняшний день остается не вполне ясным. Какие именно стволовые клетки наиболее предпочтительны в лечении ишемических заболеваний сердечно-сосудистой системы – до сих пор спорный вопрос [Маслов Л.Н., 2013; Ekström K. et.al., 2012; Fisher S.A. et.al. 2013]. В клинике введение пациентам как CD34⁺, так и

мезенхимальных клеток показало примерно одинаковую эффективность в изменениях фракции выброса левого желудочка, конечно-диастолического объема, влиянии на толерантность к физической нагрузке и улучшение качества жизни больных [Матюков А.Л., 2006; Gneschi M., Danieli P., Cervio E., 2012; Kandala J. et.al.2013]. Израильским ученым экспериментально удалось показать усиление миграции мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга в кровь под действием лазерного излучения с длиной волны 804 нм, сопровождающееся активацией репарации миокарда с моделью инфаркта [Tuby H., 2011]. Стимуляция выхода CD34⁺ клеток из костного мозга в кровь не лазерным воздействием, а другими способами, например цитокинами (гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор), в эксперименте и клинических работах также приводила к уменьшению площади соединительной ткани в миокарде и улучшению клинических показателей у больных с инфарктом миокарда [Дыгай А.М. и др., 2010].

Мы предполагаем, что под действием лазерного облучения не только CD 34⁺, но и другие клетки красного костного мозга мигрируют в кровь. Эффективность воздействия на ишемию может быть обусловлена не каким-то конкретным клеточным типом, а целым комплексом эффектов. Изменения миграционных свойств могут происходить не только у недифференцированных клеток, но и созревающих, например у ретикулоцитов, влиять на количество эритроцитов крови и соответственно улучшать кислородтранспортные функции крови.

3.8 Динамика некоторых показателей периферической крови у крыс с локальным повреждением миокарда после лазерного воздействия на красный костный мозг

При лазерном воздействии на красный костный мозг закономерно возникает вопрос о влиянии облучения на систему крови и о связанных с этим изменениях в системе транспорта кислорода. По нашим данным количество эритроцитов достоверно увеличивалось на 1 сутки после окончания лазерных воздействий на костный мозг и оставалось повышенным на 10 сутки (Таблица 32).

Таблица 32.

Динамика количества эритроцитов и ретикулоцитов периферической крови после лазерного воздействия на красный костный мозг.

		Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Ретикулоциты, ‰
локальное повреждение миокарда	1 сутки	6,35(6,29;6,80)	18(17;20)
	10 сутки	6,45(6,32;6,85)	17(16;20)
локальное повреждение миокарда +лазерное воздействие 980 нм	1 сутки	7,65(6,92;7,94) $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,401$	24(21;29) $p_1 = 0,014$ $p_2 = 0,916$
	10 сутки	7,39(6,93;7,75) $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,174$	19(18;20) $p_1 = 0,289$ $p_2 = 0,394$
локальное повреждение миокарда +лазерное воздействие 670 нм	1 сутки	7,65(7,00;8,75) $p_1 = 0,009$	26(20;32) $p_1 = 0,058$
	10 сутки	8,40(7,15;11,6) $p_1 = 0,009$	18(16;20) $p_1 = 0,743$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием

p_2 - между группами после лазерного воздействия 970 нм и 670нм

Это наблюдалось при воздействии лазеров обеих длин волн. Относительное содержание ретикулоцитов увеличивалось только в первые сутки после окончания лазерного воздействия с длиной волны 980 нм на красный костный мозг, а при воздействии лазера 670 нм, не достигало статистически значимых отличий, хотя и увеличивалось у большинства животных.

Одновременно с повышением содержания эритроцитов происходил рост содержания гемоглобина и рост показателя гематокрита (Таблица 33). Достоверные различия с контролем (локальное повреждение миокарда без лазерного воздействия на костный мозг) этих показателей обнаруживались на 1 сутки для лазеров обоих типов, на 10 сутки только для облучения 980 нм. При этом группы с разной длиной волны между собой не отличались.

Наблюдаемое увеличение показателей красной крови можно оценить как антигипоксические изменения, позволяющие улучшить доставку кислорода в миокард. Данный эффект лазерного воздействия на костный мозг является благоприятным для повышения неспецифической выносливости организма и улучшения условий для репарации поврежденных тканей.

Интересным является, что подобные результаты были получены при изучении влияния инфракрасного лазерного излучения в различных режимах и дозах на красный костный мозг здоровых животных без повреждения миокарда. Хотя в целом эффект лазерного воздействия на костный мозг исследователи оценивали как стимулирующий, оказалось, что применение у здоровых животных высокой плотности дозы лазерного облучения (от 450 Дж/см²) вызывало снижение содержания ретикулоцитов и эритроцитов в крови [Головнева Е.С. и др., 2013].

Таблица 33.

Динамика содержания гемоглобина и уровня гематокрита после лазерного воздействия на костный мозг.

		Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
локальное повреждение миокарда	1 сутки	150(142;153)	48,0(47,1;53,2)
	10 сутки	151(144; 153)	47,2(46,9; 52,9)
локальное повреждение миокарда +лазерное воздействие 980 нм	1 сутки	168(163;179) $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,174$	55,5(53,8;57,9) $p_1 = 0,047$ $p_2 = 0,464$
	10 сутки	159(156;162) $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,600$	54,2(53,5;56,2) $p_1 = 0,047$ $p_2 = 0,345$
локальное повреждение миокарда +лазерное воздействие 670 нм	1 сутки	159(159;171) $p_1 = 0,009$	53,7(51,9;55,7) $p_1 = 0,117$
	10 сутки	152(143;169) $p_1 = 0,754$	53,1(50,1;56,5) $p_1 = 0,117$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием

p_2 - между группами после лазерного воздействия 970 нм и 670нм

Содержание эритропоэтина в сыворотке крови животных с локальным повреждением миокарда после воздействия на костный мозг лазерного излучения на первые сутки было достоверно сниженным. На 10 сутки отличий от группы, не получавшей лазерного воздействия, не было (Таблица 34). Можно предположить, что в период лазерного облучения костного мозга, эритропоэтин мог потребляться там в процессе интенсивного эритропоэза, так как известно о его влиянии на ранние этапы этого процесса. Нарастание количества ретикулоцитов на

1 сутки, является косвенным свидетельством этого. Другой причиной снижения содержания эритропоэтина могло быть его потребление в процессе репарации поврежденного миокарда клетками.

Известно, что рецепторы к эритропоэтину экспрессируют многие клетки, в том числе и кардиомиоциты, клетки сосудистой стенки, стволовые клетки, тучные клетки, клетки иммунной системы, участвующие в воспалении [Лебедева Е.А. и др., 2012; Fantacci M.et.al. 2006]. Разнонаправленные колебания содержания эритропоэтина в крови наблюдаются при заболеваниях сердца, почек, печени, связано это с различными фазами течения воспалительного процесса и ремоделирования органа [Королев А.Е., 2011; Макарова Н.А., Захаров Ю.М., 2011; Sanganalmath S.K. et.al., 2011; Wienmann T. et.al., 2015].

Таблица 34.

Динамика содержания эритропоэтина в сыворотке крови после лазерного воздействия на костный мозг.

		1 сутки	10 сутки
локальное повреждение миокарда		4,223 (4,021; 4,435)	4,313 (4,120; 4,699)
локальное повреждение миокарда + лазерное воздействие	670нм	3,735(3,349; 3,928) p ₁ =0,028 p ₂ =0,075	4,892 (4,311; 6,012) p ₁ = 0,174 p ₂ =0,465
	980нм	3,339 (2,098; 3,347) p ₁ = 0,009	4,562 (4,312; 4,834) p ₁ = 0,347

p₁ - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием

p₂ - между группами после лазерного воздействия 970 нм и 670нм

Имеются данные, что ЭПО обеспечивает мобилизацию эндотелиальных клеток-предшественников и стволовых клеток CD34+ / Flk- 1, вызывает экспрессию VEGF и SDF-1 α в поврежденных тканях

миокарда, увеличивает плотность капилляров, уменьшает размеры постинфарктного рубца, улучшает структуру и функцию тканей сердца [Королев А.Е., 2011; Xue J. et al., 2014, Nakano M. et al., 2007; Guven Bagla A. et al., 2013; Sanchis-Gomar F. et al., 2014]. Показано, что эритропоэтин ингибирует апоптоз клеток сосудистого эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов [Шутов А.М., Саенко Ю.В., 2006; Guven Bagla A. et al., 2013]. Введение эритропоэтина мышам с инфарктом миокарда увеличивало число малых кардиомиоцитов в области инфаркта и значительно улучшало функцию сердца по сравнению с контролем [Zafiriou M.P. et al., 2014]. В клинических исследованиях краткосрочное введение высоких доз ЭПО увеличивает уровень циркулирующих CD34+ и эритроидных клеток-предшественников и значительно снижает размер инфаркта у пациентов с ОИМ. [Bullard A.J., Yellon D.M., 2005; Taniguchi N. et al., 2010; Ferrario M. et al., 2011]. Исходя из этого, уровень эритропоэтина в крови и тканях, является важным показателем эффективности репаративных процессов.

Содержание лейкоцитов в периферической крови животных с локальным повреждением миокарда достоверно возрастало на первые сутки после окончания лазерного воздействия на костный мозг и возвращалось к исходным значениям на 10 сутки (Таблица 35). Отличий при сравнении лазерного воздействия с разной длиной волны излучения не отмечалось. По данным нашей исследовательской группы в крови животных с нормальным миокардом после воздействия инфракрасным лазером на костный мозг также отмечается кратковременное увеличение содержания лейкоцитов и сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону молодых форм нейтрофилов. (Головнева Е.С. и др., 2015).

Таблица 35.

Динамика содержания лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) в периферической крови после лазерного воздействия на костный мозг.

	Срок	Количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$
локальное повреждение миокарда	1 сутки	8,25(8,11;10,02)
	10 сутки	8,73(8,31;11,3)
локальное повреждение миокарда + лазерное воздействие 980 нм	1 сутки	15,32(15,0;17,2) $p_1 = 0,009; p_2 = 0,251$
	10 сутки	10,05(8,45;11,98) $p_1 = 0,916; p_2 = 0,753$
локальное повреждение миокарда + лазерное воздействие 670 нм	1 сутки	14,61(11,9;15,95) $p_1 = 0,028$
	10 сутки	10,15(8,25;11,75) $p_1 = 0,754$

p_1 - между группами без лазерного воздействия и с лазерным воздействием

p_2 - между группами после лазерного воздействия 970 нм и 670 нм

Подводя итог этому разделу работы можно сделать вывод, что лазерное воздействие на красный костный мозг вызывает выход в периферическую кровь разных по зрелости клеток - эритроцитов, ретикулоцитов и лейкоцитов и стволовых клеток. Поэтому наблюдаемые после лазерного воздействия на красный костный мозг эффекты можно рассматривать с позиции конкретных проявлений возможностей той или иной клеточной популяции по синтезу биологически активных веществ и паракринному влиянию на другие клетки.

Заключение

Лазерное воздействие на зоны локализации костного мозга служит триггерным моментом активации его разнообразных клеточных популяций – стволовых, созревающих, зрелых клеток и клеток стромы, (Рисунок 5). Благодаря усилению миграции клеток из красного костного мозга происходит изменение состава периферической крови, как со стороны лейкоцитарного звена, так и со стороны эритроцитарного звена. Повышение количества эритроцитов и содержания гемоглобина должно влиять на увеличение кислородтранспортных возможностей крови и способствовать протеканию репаративных процессов.

Увеличение содержания циркулирующих стволовых клеток в крови позволяет повысить их хоуминг в зоны поврежденного миокарда, где эти клетки могут паракринно воздействовать на регуляцию сосудистого тонуса, пролиферацию, неоангиогенез и выживаемость кардиомиоцитов в ишемизированных зонах, за счет непосредственного выделения факторов роста и ферментов и воздействия на синтетические возможности других клеточных популяций. Такое воздействие, по данным литературы, реализуется посредством цитокинов и микровезикулярного транспорта олигонуклотидов.

Возможность стволовых клеток влиять на тучные клетки, являющиеся в свою очередь главными регуляторами тонуса и пролиферации клеток микроциркуляторного русла, проявляется в активации мерокриновой и голокриновой дегрануляции мастоцитов, увеличении их количества в миокарде.

Начиная с первых суток после окончания лазерного воздействия на красный костный мозг, в поврежденном миокарде отмечается повышение экспрессии фактора сосудистого эндотелия и желатиназной активности, что является базой для неоангиогенеза в миокарде. Отсутствие подобных изменений в интактном миокарде,

свидетельствует о хоуминге в поврежденную ткань клеток - источников ЭТИХ



Рисунок 5. Механизмы влияния лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на репарацию поврежденного миокарда.

биологически активных веществ, главными из которых по нашему мнению являются стволовые и тучные клетки, а также клетки лейкоцитарного ряда, участвующие в воспалении.

Наблюдаемая нормализация микроциркуляции на фоне увеличения площади сосудистого русла, артериального кровотока и повышения кислородтранспортных возможностей крови позволяет минимизировать явления ишемии у животных, получавших лазерную терапию. Процессы репарации миокарда проходят в условиях достаточной обеспеченности тканей кислородом и питательными веществами, сохраняя баланс между пролиферацией фибробластов и максимально возможным сохранением структуры миокарда. В результате в группе животных, облученных лазером, происходит уменьшение площади ишемических изменений кардиомиоцитов, коллагеновых волокон соединительной ткани при диффузном повреждении миокарда и очага некроза при локальном повреждении.

Выводы

1. После окончания среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг с первых суток наблюдается достоверное уменьшение очага некроза при локальном повреждении, а с 10 суток уменьшение площади ишемических изменений кардиомиоцитов и коллагеновых волокон соединительной ткани при диффузном повреждении миокарда.
2. Реакция сосудов микроциркуляторного русла поврежденного миокарда на среднеинтенсивное лазерное облучение красного костного мозга проявляется в виде увеличения относительной площади сосудистого русла, увеличения просвета капилляров, снижения индекса Керногана артериальных сосудов начиная с первых суток наблюдения. При этом происходит восстановление функциональной регуляции микроциркуляции, что отражается в снижении значений показателя микроциркуляции для диффузного и локального повреждения миокарда на 1 и 10 сутки и приросте индекса флуксоций микроциркуляции для локального повреждения на 10 сутки.
3. Среднеинтенсивное лазерное воздействие на зоны локализации красного костного мозга приводит к повышению функциональной активности тучных клеток в поврежденном миокарде: на первые сутки после облучения снижается интегральная оптическая плотность, на 10 сутки происходит усиление экзоцитоза гранул, увеличение количества и дальнейшее снижение оптической плотности мастоцитов.
4. После среднеинтенсивного лазерного воздействия на зоны локализации красного костного мозга происходит усиление экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия в поврежденном миокарде на всех сроках наблюдения.
5. После среднеинтенсивного лазерного воздействия на красный костный мозг в поврежденном миокарде наблюдается повышение активности желатиназ на 1 сутки и 10 суток наблюдения.

6. Среднеинтенсивное лазерное облучение зон локализации красного костного мозга у больных с острым инфарктом миокарда вызывает повышение миграции CD34⁺/45⁺ клеток в периферическую кровь, где их содержание увеличивается в 2-3 раза. К 10 суткам после окончания облучения содержание CD34⁺/45⁺ клеток не отличается от контроля.
7. У животных с локальным повреждением миокарда после среднеинтенсивного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга в периферической крови в первые сутки отмечается увеличение содержания эритроцитов, ретикулоцитов, гемоглобина, лейкоцитов, на 10 сутки повышено только количество эритроцитов.
8. Выраженность репаративных изменений, наблюдаемых в миокарде после среднеинтенсивного лазерного воздействия на зоны локализации красного костного мозга, не отличается при использовании лазеров с длиной волны 670 и 980 нм.

Список использованной литературы

1. Абдуллаев М.М. Применение низкоинтенсивного лазерного излучения в комплексном лечении больных перитонитом и механизмы его биологического действия / М.М. Абдуллаев, А.М. Мамедов // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, N 4. – С. 61-64 .
2. Авруцкий М.Я., Катковский Д.Г., Мусихин Л.В. Гусейнов Т.Ю. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на основные биологические процессы и гомеостаз у больных // Анестезиология и реаниматология. – 1991. – N 5. – с.74-79.
3. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
4. Александрова О.М. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на функцию эндотелия, микроциркуляторные расстройства и некоторые показатели системы гемостаза у больных гипертонической болезнью: дис... канд. мед. наук: 14.00.05 — Владикавказ, 2008. – 134 с.
5. Амиров Н.Б. Эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения при лечении ишемической болезни сердца / Н.Б. Амиров, А.И. Абдрахманова // Терапевтический архив. – 2004. – N8 (76). – С. 79-82.
6. Арташян, О.С., Изучение функциональной активности тучных клеток при иммобилизационном стрессе / О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Е.А. Мухлынина // Цитология. – 2006. – Т.48, N8. – С.665-668.
7. Бабушкина Г.В., Картелишев А.В. Этапная комбинированная лазерная терапия при различных клинических вариантах ишемической болезни сердца. – М.: Фирма «Техника», 2000. – 120 с.
8. Байбеков И.М., Стрижков Н.А. Влияние лазерного облучения крови во время искусственного кровообращения на форму эритроцитов // Лазерная медицина. – 2012. – N 1. – С.17-21.

9. Бакшеев В.И., Коломоец Н.М. Эритропоэтин в клинической практике: прошлое, настоящее и будущее (обзор литературы) // Клиническая медицина. – 2007. – N 9. – С. 30–37.
10. Баранов В.Н. Низкоэнергетические лазеры в рефлексотерапии хронических сальпингоофоритов. – Челябинск: Изд. "Иероглиф", 2000. – 112 с.
11. Бережная Н.М. Тучные клетки и гистамин: физиологическая роль / Н.М. Бережная, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т.4, N3. – С.29-35.
12. Бойчев О.Д. Комплексная клиническая и гемореологическая оценка эффективности лечения больных стенокардией напряжения с использованием лазерного облучения крови: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.06.- Москва, 2002.- 123 с.
13. Бриль Г.Е. Молекулярно-клеточные основы терапевтического действия низкоэнергетического лазерного излучения : учебное пособие / Г.Е. Бриль. – Саратов: Изд-во Саратовского мед. Университета, 2000 – 42 с.
14. Бугаева И.О. Влияние низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на органы иммуногенеза: дис. ... докт. мед. наук : 03.00.02.– Саратов, 2006.– 285 с.
15. Буйлин В.А. Низкоинтенсивные лазеры в лечении артериальной гипертензии. – М.: Фирма «Техника», 1998. – 204 с.
16. Бурдули Н., Гиреева Е.Ю. Изменения уровня гомоцистеина, липидного спектра крови, процессов перекисного окисления липидов и эндотелиальной функции у больных стабильной стенокардией напряжения под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения // Лазерная медицина. – 2010. – N 2. – С.26-30.
17. Бурдули Н.М., Кехоева А.Ю. Влияние лазерного излучения на микроциркуляцию, агрегацию тромбоцитов и эритроцитов крови больных ишемической болезнью сердца с сопутствующим сахарным

диабетом 2 типа // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, N 3. – С. 29-30.

18. Бурдули, Н.М. Динамика показателей микроциркуляции, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у больных гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью под влиянием лазерной терапии / Н.М. Бурдули, Д.Я. Тадтаева // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, N 4. – С. 44-48

19. Быков, В.Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток / В.Л. Быков // Морфология. – 2000. – Т.117, N2. – С.86-92.

20. Быков, В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток / В.Л. Быков // Морфология. – 1999. – Т.115, N2. – С.64-71.

21. Васильев А.П. Клинико-профилактические аспекты применения лазерного излучения у больных стенокардией. — Тюмень, 2003. — 240 с.

22. Владимиров Ю., Клебанов Г., Борисенко Г., Осипов А. Молекулярные и клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения //Биофизика. — 2004. — Т. 49, N 2. — С. 339–350.

23. Владимиров Ю.А. Лазерная терапия: настоящее и будущее // Соровский образовательный журнал. – N12. – 1999. – С.2-8.

24. Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними. Под ред.: Mendis S, Puska P, Norrving B. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2013. – 164 с.

25. Гавриленко А.В, Мусаев М.М. Лазерные методики в комплексном лечении больных трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. – N4. – С.64-67

26. Гавришева Н.А. Тучные клетки сердца в норме и при патологии / Н.А. Гавришева, С.Б. Ткаченко // Кардиология. – 2003. – N6. – С.59-64.

27. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика, 1998. — 459 с.
28. Головнева Е.С., Кравченко Т.Г., Кудрина М.Г., Гужина А.О., Попов Г.К. Локальные эффекты системного лазерного облучения повышенной мощности // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2012. - N.2. - С.126-127.
29. Головнева Е.С., Шакиров Н.Н., Кравченко Т.Г., Омеляненко А.Г., Попова И.А. Влияние многократного инфракрасного лазерного облучения зон локализации красного костного мозга на показатели эритроцитарного звена периферической крови // Лазерная медицина. – 2013. – Т. 17, N 4. – С. 33-35.
30. Головнева, Е.С. Динамика активности протеолитических ферментов в процессе неоангиогенеза, стимулированного воздействием высокоинтенсивного лазерного излучения // Вестн. новых мед. технологий. – 2002. – Т.9, N3. – С.36-37.
31. Головнева, Е.С. Механизм универсальной активации неоангиогенеза после воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения на ишемизированные ткани // Вест. новых мед. технологий. – 2003. – Т. 10, N 1-2. – С.15-17.
32. Головнева, Е.С. Роль тучных клеток в стимуляции процесса неоангиогенеза в ответ на воздействие высокоинтенсивного лазерного излучения // Лазерная медицина. – 2001. – Т.5, вып.3. – С. 29-31.
33. Горшкова О.П., Шуваева В.Н., Дворецкий Д.П. Роль оксида азота в реакциях пилальных артериальных сосудов на воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения красной области спектра // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 2013. – N 5. – С.543-546.
34. Давыденко Т.Е. Внутрисосудистое лазерное облучение крови в комплексной терапии распространенного атеросклероза у больных

пожилого и старческого возраста: дис. ... канд. мед. наук.: 14.00.27. – Санкт-Петербург, 2006. – 121 с.

35. Долгушин, И. И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на нейтрофилы цервикального секрета у женщин с микоплазменной инфекцией / И. И. Долгушин ; соавт. О. А. Гизингер // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2008. – N 4. – С.29-31.

36. Дроздов А.А., Дроздова М.В. Заболевания крови. Полный справочник. – М.: Эксмо, 2008. – 151 с.

37. Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. Мобилизация стволовых клеток пегилированным с помощью нанотехнологии гранулоцитарным колониестимулирующим фактором как модель изучения процессов миграции прогениторных элементов // Биомедицина. – 2010. –№ 1. – С.18-22.

38. Ерохина И.Л., Моисеева О.М., Емельянова О.И., Мартынова М.Г. Активация тучных клеток при экспериментальном инфаркте миокарда у 3-недельных крысят // Цитология. – 2006. – N 8. – С.661-664.

39. Ерохина И.Л., Оковитый С.В., Емельянова О.И., Куликов А.Н., Казаченко А.А. Влияние ингибиторов ренин-ангиотензиновой системы на плотность тучных клеток в миокарде, перикарде и легком крысы при экспериментальной сердечной недостаточности // Цитология. – 2009. – N 9. – С.735-740.

40. Жданов В.С. Гиперплазия и дегрануляция тучных клеток интимы аорты и легочной артерии при остром инфаркте миокарда / В.С. Жданов, И.П. Дробкова, П.В. Чумаченко, Черпаненко Н.М // Кардиология. – 2003. – Т.43, N.11. – С. 32-35

41. Жданов В.С., Дробкова И.П., Чумаченко П.В. Воспалительная клеточная реакция и тучные клетки в интимае аорты и легочной артерии человека на ранних стадиях атеросклероза // Архив патологии. – 2006. – N 2. – С.19-23

42. Загускин С.Л. Внутриклеточные механизмы лазерной терапии [Электронный документ] / С.Л. Загускин // "МИС-РТ" – 2005. Сборник N36-3-1. - Режим доступа: <http://ikar.udm.ru/sb/sb36-3.htm>
43. Захаров С.Д. Структурные перестройки в водной фазе клеточных суспензий и белковых растворов при светокислородном эффекте / С.Д. Захаров, А.В. Иванов, Е.Б. Вольф // Квантовая электроника. – 2003. – Т.33. – С.149-162.
44. Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. Эритробластический островок. — М.: Медицина, 2002. — 280 с.
45. Захаров, С.Д. Светокислородный эффект – физический механизм активации биосистем квазимонохроматическим излучением [Электронный документ] / С.Д. Захаров, А.В. Иванов / "ЭЛЛФИ" М: ФИАН. – 2006. – Вып.14. – препринт N1 – 50 с. – Режим доступа: <http://ellphi.lebedev.ru/14/pdf1.pdf>
46. Илларионов В. Е. Теория и практика лазерной терапии. учебное руководство /В. Е. Илларионов. – М.: URSS ЛИБРОКОМ, 2010. - 149 с.
47. Кару Т.Й. Универсальный клеточный механизм лазерной биостимуляции: фотоактивация фермента дыхательной цепи цитохром-с-оксидазы / Т.Й. Кару // В сб. "Современные лазерно-информационные и лазерные технологии". под ред. В.Я. Панченко, В.С. Голубева, М.: Интерконтакт Наука. – 2005. – С.131-143.
48. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: ООО Изд-во «Фолиант», 2008. – 552 с.
49. Ким И.И. Морфофункциональная характеристика прогениторных клеток пациентов с хронической сердечной недостаточностью при интрамиокардиальной трансплантации: автореф. дисс. ...канд. мед. наук 03.03.04, 14.03.03. – Новосибирск, 2012. – 18 с.
50. Ким И.И., Повещенко О.В., Коненков В.И., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Бондаренко Н.А., Повещенко А.Ф., Сергеевичев Д.С., Караськов А.М. Эффективность мобилизации CD34+ прогениторных

- клеток препаратом G-CSF в зависимости от ишемического анамнеза и возраста больных с хронической сердечной недостаточностью // Патология кровообращения и кардиохирургия, 2012. – N. 1. - С.75-78.
51. Киселева Е.П., Крылов А.В., Старикова Э.А., Кузнецова С.А. Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система // Усп. совр. биологии. – 2009. – Т.129, №4. – С.336-347.
52. Клебанов, Г. И. Первичные и вторичные молекулярно-клеточные механизмы квантовой терапии оптического диапазона спектра / Г. И. Клебанов // Проблемы физической биомедицины. – Саратов, 2003. – С.42-52.
53. Клебанов, Г.И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения красного диапазона на активность супероксиддисмутазы макрофагов / Г.И. Клебанов, Е.А. Полтанов, Ю.А. Владимиров // Биофизика. – 2003. – Т.48, N3. – С.462-473.
54. Клебанов, Г.И. Мембранные механизмы фотобиологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения / Г. И. Клебанов // Мембраны, Критические технологии. – N6 М.: ВНИИТИ, 2000. – С. 26-44 .
55. Климин В.Г. Тучные клетки костного мозга в регуляции кроветворения при адаптивных реакциях организма / В.Г. Климин, А.И. Кузмин // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – N 3. – С.22-23.
56. Кожура В.Л., Дворецкий С.В., Новодержкина И.С. Влияние внутрисосудистого гелий-неонового лазерного облучения крови на состояние компенсаторных процессов в остром периоде геморрагического шока и после реанимации // Анестезиология и реаниматология. – 1993. – N 4. – С.43-47.
57. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. Лазерная доплеровская флуометрия в оценке состояния и расстройств

микроциркуляции. Методическое пособие. - Москва.: Медицина- 2012.- 31с.

58. Кондашевская М.В. Тучные клетки и гепарин - ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2010. – N 6. – С. 49-54.

59. Королев А.Е. Применение рекомбинантного эритропоэтина для фармакологической коррекции ишемических повреждений миокарда и эндотелиальной дисфункции: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06 Курск, 2011. – 21 с.

60. Кочетова О.А. Возможности применения низкоинтенсивной лазерной терапии в лечении профессиональных заболеваний периферической нервной системы / О.А. Кочетова, Н. Ю. Малькова // Медицина труда и промышленная экология. – 2013. – N 8. – С. 37-39.

61. Кравченко Т.Г. Реакция отдельных компонентов кроветворного микроокружения на воздействие высокоинтенсивного лазерного излучения в неповреждающих режимах : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 – Челябинск, 2008. – 121 с.

62. Кравченко Т.Г., Реакция тучноклеточной популяции и сосудов костного мозга на лазерное облучение с длиной волны 660 и 980 нм / Т.Г. Кравченко, Е.С. Головнева // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – N4. – С. 82-83.

63. Кузнецов С.И., Широких Ю.В. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические организмы // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – N1. – С. 80-85.

64. Кукольникова Е.Л., Жуков Б.Н. Способ местного лечения трофических язв венозной этиологии // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. – N7. – С. 67-69

65. Кулова Л.А. , Бурдули Н.М. Влияние внутривенной лазерной терапии на функцию эндотелия и состояние микроциркуляции у

- больных ревматоидным артритом // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2014. – N.3. – С.9-12
66. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова: Руководство для врачей. ОАО "Издательство Медицина", 2005. – 256с.
67. Лебедева Е.А., Беляевский А.Д., Белоусова М.Е. Эффекты эритропоэтина в клинике и эксперименте // Фундаментальные исследования. – 2012. – N 10 (часть 1). – С. 157-161.
68. Лозовая Л. П. Эффективность внутривенного лазерного облучения крови у мужчин с инфарктом миокарда: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.06 Кардиология. – Челябинск: 2005. – 22 с .
69. Макарова Н.А., Захаров Ю.М. Влияние количественных соотношений эритропоэтина и опухольнекротизирующего фактора- α на структурнофункциональные свойства миокарда у больных с сердечной недостаточностью // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – N 1(33) . – С. 60-63.
70. Мальцева, Л. И. Возможности низкоинтенсивного импульсного лазерного излучения красного спектра при лечении хронического эндометрита / Л. И. Мальцева, Г. Р. Смолина // Акушерство и гинекология : Научно-практический журнал. – 2012. – N 3. – С. 49-53 .
71. Маслов Л.Н., Подоксенов Ю.К., Портниченко А.Г., Наумова А.В. Гипоксическое прекондиционирование стволовых клеток как новый подход к повышению эффективности клеточной терапии инфаркта миокарда // Вестник РАМН 2013. – N 12. – С.16-25.
72. Матюков АЛ. Влияние интрамиокардиальной аутотрансплантации клеток костного мозга на перфузию ишемизированного миокарда в эксперименте // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия N 3 / Т.1 / 2006 <http://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-intramiokardialnoy-autotransplantatsii-kletok-kostnogo-mozga-na-perfuziyu-ishemizirovannogo-miokarda-v-eksperimente>

73. Мачнева Т. Роль эндогенных порфиринов в лазерной терапии экспериментальных кожных ран / Т. Мачнева, Н. Булгакова, Ю. Владимиров, А. Осипов // Биофизика. — 2010. — Т. 55, N 3. — С. 532–538.
74. Мешалкин Е.Н., Сергиевский В.С. Применение низкоэнергетического гелий-неонового лазера в кардиологии и кардиохирургии // Лазеры в хирургии. – М., 1989. – С. 238-243.
75. Минаев, В. П. Лазерные аппараты для хирургии и силовой терапии: вчера, сегодня, завтра // Лазерная медицина. – 2012. – Т. 16, N 3. – С. 57-65
76. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 896 с.
77. Москвин С.В., Ачилов А.А Основы лазерной терапии – Тверь, 2008. – 256 с.
78. Мухлынина Е.А., Юшков Б.Г. Реакция соединительной ткани различных органов крыс на острое локальное воспаление // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2013. – Вып. 2(14). – С.42-49.
79. Мчедлишвили Г.И. Концепция структурирования кровотока в микрососудах // Физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 1995. –Т. 81. –N 6. – С. 48-53.
80. Нечипуренко Н.И. Механизмы действия и биологические эффекты низкоинтенсивного лазерного излучения / Н.И. Нечипуренко, И.Д. Пашковская, Ю.И. Степанова, Л.А. Василевская // Медицинские новости. – 2008. – N 12. – С. 17-21.
81. Пат. 2166924 РФ Способ обогащения крови стволовыми кроветворными клетками / Шутко А.Н.; Федоров В.А. - N 99123280/14 - опубл. 20.05.2001, Бюл. № 14
82. Патент 2292925 РФ «Способ лечения стенозирующих заболеваний периферических сосудов» / Гужина А.О., Головнева Е. С., Гужин В.Э., и

<http://www.freepatent.ru/images/patents/176/2292925/patent-2292925.pdf>

83. Плетнев, С.Д. Лазеры в клинической медицине: руководство для врачей / С.Д. Плетнев. – М.: Медицина, 1996. – 428с.

84. Повещенко А.Ф., Повещенко О.В., Коненков В.И. Современные достижения в создании методов изучения миграции стволовых клеток // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – № 9. – С. 46-51

85. Повещенко О.В., Ким И.И., Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Повещенко А.Ф., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Караськов А.М., Коненков В.И. Функциональная характеристика мононуклеаров периферической крови после введения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора у пациентов с хронической сердечной недостаточностью // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2014. – N 1. – С. 26-31.

86. Прикладная лазерная медицина: учеб. и справоч. пособие / под ред. Х.П. Берлиена, Г.Й. Мюллера, пер. с нем. под ред. Н.И. Коротеева, О.С. Медведева. – М.: Интерэксперт, 1997. – 345с.

87. Применение оптического излучения в физиотерапии (Фототерапия) / Н.Н. Махоткина, Г.Н. Пономаренко, Г.Е. Бриллиль – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.

88. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера. – 2002. – 312с.

89. Рузов И.М., Даукша К.К. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения и обзидана на сократительный аппарат сердца при ишемии // Вопросы курортологии.- 1990.- №4.- С.51-53

90. Савина Л.В., Зиньковская Т.М., Влияние лазерной терапии на микроструктуру сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца // Рос. мед. журн. – 1992 – N 3. – С. 35-37.

91. Сапожников М.Ю., Сапожникова А.А., Павлов А.Ф., Сапожникова С.Ю., Софронова Е.В. Динамика содержания гистамина в форменных элементах крови больных стенокардией напряжения под влиянием низкоинтенсивного лазерного воздействия // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, N 1. – С. 25-27.
92. Семенков В.Ф., Беляков В.К., Лавров В.Ф., Тупикин Г.В. Влияние малоинтенсивного лазерного излучения различных длин волн на костно-мозговые предшественники иммунопоэза // Биофизика. – 1993. – Т.38, N3. – С.504-506.
93. Синцов, Д.Л. Роль нейропептидов в регуляции морфофункционального состояния тучных клеток при хирургическом повреждении миокарда / Д.Л. Синцов. Е.С. Головнева, Г.К. Попов // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – N2. – С.25-26.
94. Сиренко Ю.Н., Толстопятов С.М., Красницкий С.С. и др. Влияние квантовой гемотерапии на кислородтранспортную функцию крови в ранние сроки инфаркта миокарда // Сов. мед. – 1991. – N 4. – С. 41-47.
95. Смолянинов А.Б., Цыган В.Н., Жаров Е.В., Никитин В.Ю., Кириллов Д.А., Сидоренко В.А. Применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при остром инфаркте миокарда для мобилизации стволовых клеток костного мозга // АГ-инфо 2006 – 2 С.16-22.
96. Танканаг А.В. Разработка методов спектрально-временного анализа колебаний периферического кровотока для лазерной доплеровской флоуметрии: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.02. – Пушкино, 2007. – 18 с.
97. Тимошенко Т.Е., Дворецкий Д.П. Влияние низкоинтенсивного красного и инфракрасного лазерного излучения на артериальную и деоксигенированную кровь крыс // Российский физиологический журнал. – 2010. – N 10. – С.998-1004.

98. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы: В 4 т. / А.А. Тотолян, И.С. Фрейдлин. – М.: Медицина, 2001.– Т.4.: Базофилы и тучные клетки. – 293с.
99. Трунова Г.В. Морфофункциональная характеристика популяций тучных клеток у мышей BALB/C и C57B1/6 при холодовом воздействии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2004. – Т.138, №8. – С.207-209.
100. Физиотерапия: национальное руководство / под ред. Г.Н. Пономаренко. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 864 с. (с. 183-189)
101. Филиппова Т.В., Мельникова Ю.А., Ефремушкин Г.Г. Центральная гемодинамика у больных пожилого и старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью в процессе комплексного лечения с применением периндоприла/индапамида и низкоинтенсивного лазерного излучения // Российский кардиологический журнал : Научно-практический медицинский журнал. – 2012. – N 5. – С. 84-89 .
102. Хосровян А.М. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на состояние микроциркуляции и гемокоагуляции в ближайшем и раннем послеоперационном периоде: автореф. дисс. ...канд. мед. наук — 14.01.20 — Москва, 2010. - 24 с.
103. Черниховская Н.Е. Влияние оксида азота и лазеротерапии на репаративные процессы в условиях гнойной раны / Н.Е. Черниховская, А.А. Чомаева, В.К. Шишло // Лазерная медицина. – 2013. – Т. 17, N 1. – С. 26-28.
104. Черток В.М. Гистофизиология тканевых базофилов твердой мозговой оболочки при лазерном облучении / В.М. Черток, А.Е. Коцюба, А.В. Ларюшкина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1989. – Т.108, N10. – С.493-495.
105. Черток В.М., Коцюба А.Е., Беспалова Е.П. Влияние оксида азота на реактивность сосудов микроциркуляторного русла при воздействии лазером // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2007. – N 4. – С.44-46.

106. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Каня О.В. Эндогенные прогениторы как источники клеточного материала для репарации зоны ишемического повреждения при экспериментальном инфаркте миокарда в условиях измененной концентрации вазоэндотелиального фактора роста// Клеточные технологии в биологии и медицине -2014.-N 4.-С.212-215.
107. Шутов А.М., Саенко Ю.В. Плеотропные кардиопротективные эффекты эритропоэтина // Нефрология. – 2006. – Том 10(4). – С.18-22.
108. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Арташян О.С. Тучные клетки и гипоксия // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – N 1. – С.45-48
109. Abdel-Latif A., Bolli R., Tleyjeh I.M, Montori V.M., Perin E.C., Hornung C.A., Zuba-Surma E.K., Al-Mallah M., Dawn B. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis // Arch Intern Med. – 2007. – May 28. – V.167(10). – P. 989-997.
110. Alayat M.S., Elsodany A.M., El Fiky A.A. Efficacy of high and low level laser therapy in the treatment of Bell's palsy: a randomized double blind placebo-controlled trial // Lasers Med Sci. – 2014. – V. 29(1) . – P. 335-42.
111. AlGhandi A., Kumar A., Moussa N.A. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells // Lasers Med. Sci. – 2012. – V.27. – P. 237–249.
112. Allakhverdi Z., Comeau M.R., Armant M., Agrawal R., Woodfolk J.A., Sehmi R., Howie K.J., Gauvreau G.M., Delespesse G. Mast Cell-Activated Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Regulate Proliferation and Lineage Commitment of CD34(+) Progenitor Cells // Front Immunol. – 2013. – V.4. – P.461-465.
113. Alves A.N., Fernandes K.P., Deana A.M., Bussadori S.K., Mesquita-Ferrari R.A. Effects of Low-Level Laser Therapy on Skeletal Muscle Repair: A Systematic Review // Am J Phys Med Rehabil. – 2014. – Aug 13. [Epub ahead of print]

114. Anwer A.G., Gosnell M.E., Perinchery S.M., Inglis D.W., Goldys E.M. Visible 532 nm laser irradiation of human adipose tissue-derived stem cells: effect on proliferation rates, mitochondria membrane potential and autofluorescence // *Lasers Surg. Med.* – 2012. – V.44. – P.769–778.
115. Aoki A., Mizutani K., Takasaki A.A., Sasaki K.M., Nagai S., Schwarz F., Yoshida I., Eguro T., Zeredo J.L., Izumi Y. Current status of clinical laser applications in periodontal therapy // *Gen Dent.* – 2008. – V. 56(7). – P. 674-687
116. Asanuma H., Minamino T., Ogai A., Kim J., Asakura M., Komamura K., Sanada S., Fujita M., Hirata A., Wakeno M., Tsukamoto O., Shinozaki Y., Myoishi M., Takashima S., Tomoike H., Kitakaze M. Blockade of histamine H2 receptors protects the heart against ischemia and reperfusion injury in dogs // *J Mol Cell Cardiol.* – 2006. – V. 40(5). – P. 666-74.
117. Assmann A., Heke M., Kröpil P., Ptok L., Hafner D., Ohmann C., Martens A., Karluß A., Emmert M.Y., Kutschka I., Sievers H.H., Klein H.M. Laser-supported CD133+ cell therapy in patients with ischemic cardiomyopathy: initial results from a prospective phase I multicenter trial // *PLoS One.* – 2014. – V. 9(7). – P. e101449.
118. Azouz N.P., Fukuda M., Rothenberg M.E., Sagi-Eisenberg R. Investigating mast cell secretory granules; from biosynthesis to exocytosis // *J Vis Exp.* – 2015. – N. 95. – P.52505. doi: 10.3791/52505.
119. Babin-Ebell J., Sievers H.H., Charitos E.I., Klein H.M., Jung F., Hellberg A.K., Depping R., Sier H.A., Marxsen J., Stoelting S., Kraatz E.G., Wagner K.F. Transmyocardial laser revascularization combined with intramyocardial endothelial progenitor cell transplantation in patients with intractable ischemic heart disease ineligible for conventional revascularization: preliminary results in a highly selected small patient cohort // *Thorac Cardiovasc Surg.* – 2010. – V. 58(1). – P. 11-16.
120. Baldwin A.L. Mast cell activation by stress.// *Methods Mol Biol.* – 2006. – V. 315. – P. 349-360.

121. Bandara G., Metcalfe D.D., Kirshenbaum A.S. Growth of human mast cells from bone marrow and peripheral blood-derived CD34(+) pluripotent hematopoietic cells // *Methods Mol Biol.* – 2015. – V.1220. – P.155-162.
122. Barboza C.A., Ginani F., Soares D.M., Henriques A.C., Freitas Rde A. Low-level laser irradiation induces in vitro proliferation of mesenchymal stem cells // *Einstein (Sao Paulo).* – 2014. – V. 12(1). – P. 75-81.
123. Bauer C. Erythropoietin – from gene structure to therapeutic applications // *J. Perinat. Med.* – 1995. – V.23. – N 1–2. – P.77–81.
124. Bayat M., Vasheghani M.M., Razavie N., Jalili M.R. Effects of low-level laser therapy on mast cell number and degranulation in third-degree burns of rats // *J Rehabil Res Dev.* 2008. – V. 45(6). – P. 931-938.
125. Beaven M.A. Our perception of the mast cell from Paul Ehrlich to now // *Eur J Immunol.* 2009. – V. 39(1). – P. 11-25.
126. Beckmann K.H., Meyer-Hamme G., Schröder S. Low level laser therapy for the treatment of diabetic foot ulcers: a critical survey // *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2014. – V. 2014. – P. 626127.
127. Beltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajstura J., Nadal-Ginard B., Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. // *Cell.* – 2003. – V. 114(6). – P. 763-776.
128. Bhattacharya K., Farwell K., Huang M., Kempuraj D., Donelan J., Papaliadis D., Vasiadi M., Theoharides T.C. Mast cell deficient W/W^v mice have lower serum IL-6 and less cardiac tissue necrosis than their normal littermates following myocardial ischemia-reperfusion // *Int J Immunopathol Pharmacol.* –2007. – V. 20. – P. 69–74.
129. Bidri M. Nitric oxide pathway is induced by Fc epsilon RI and up-regulated by stem cell factor in mouse mast cells / M. Bidri, S. Ktorza, I. Vouldoukis [et al] // *Eur J Immunol.* – 1997. – V.27, N11. – P.2907-2913.

130. Bidri M., Féger F., Varadaradjalou S., Ben Hamouda N., Guillosson J.J., Arock M. Mast cells as a source and target for nitric oxide // *Int Immunopharmacol.* – 2001. – V.1(8). – P.1543-1558.
131. Bjordal J.M., Bensadoun R.-J., Tuner J., Frigo L., Gjerde K., Lopes-Martins R.A. A systematic review with meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) in cancer therapy-induced oral mucositis // *Support. Care Cancer.* – 2011. – V.19. – P.1069–1077.
132. Bolli R., Chugh A.R., D'Amario D., Loughran J.H., Stoddard M.F., Ikram S., Beache G.M., Wagner S.G., Leri A., Hosoda T., Sanada F., Elmore J.B., Goichberg P., Cappetta D., Solankhi N.K., Fahsah I., Rokosh D.G., Slaughter M.S., Kajstura J., Anversa P. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. // *Lancet.* – 2011. – V. 378(9806). – P. 1847-57.
133. Bolli R., Tang X.L., Sanganalmath S.K., Rimoldi O., Mosna F., Abdel-Latif A., Jneid H., Rota M., Leri A., Kajstura J. Intracoronary delivery of autologous cardiac stem cells improves cardiac function in a porcine model of chronic ischemic cardiomyopathy // *Circulation.* – 2013. – V. 128(2). – P. 122-131.
134. Brenner W., Aicher A., Eckey T., Massoudi S., Zuhayra M., Koehl U., et al. ¹¹¹In-labeled CD34⁺ hematopoietic progenitor cells in a rat myocardial infarction model // *J Nucl Med* 2004. – V. 45(3). – P. 512–518.
135. Brooks A.C. Reactive oxygen species generation and histamine release by activated mast cells: modulation by nitric oxide synthase inhibition / A.C. Brooks, C.J. Whelan, W.M. Purcell // *British Journal of Pharmacology.* – 1999. – V.128. – P.585-590.
136. Brower G.L., Chancey A.L., Thanigaraj S., Cause and effect relationship between myocardial mast cell number and matrix metalloproteinase activity. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*-2002.- 283:518–H525.

137. Bullard A.J., Yellon D.M. Chronic erythropoietin treatment limits infarct-size in the myocardium in vitro // *Cardiovasc Drugs Ther.* – 2005. – V. 19(5). – P. 333-336
138. Carlos D. Histamine modulates mast cell degranulation through an indirect mechanism in a model IgE-mediated reaction / D. Carlos, A. Sá-Nunes, L. de Paula // *Eur J Immunol.* – 2006. – V.36, N6. – P.1494-1503.
139. Carmeliet P., Moons L., Lijnen R., et al. Urokinase-generated plasmin activates matrix metalloproteinases during aneurysm formation. // *Nat Genet.* – 1997. – 17:439–444.
140. Chancey A.L., Gardner J.D., Murray D.B., et al. Modulation of cardiac mast mediated extracellular matrix degradation by estrogen. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2005. – 289:H316–H321
141. Chow R.T., Johnson M.I., Lopes-Martins R.A., Bjordal J.M. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials // *Lancet.* – 2009. – V. 374(9705). – P. 1897-908.
142. Chugh A.R., Beache G.M., Loughran J.H., Mewton N., Elmore J.B., Kajstura J., Pappas P., Tatroles A., Stoddard M.F., Lima J.A., Slaughter M.S., Anversa P., Bolli R. Administration of cardiac stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy: the SCIPIO trial: surgical aspects and interim analysis of myocardial function and viability by magnetic resonance. // *Circulation.* – 2012. – V. 126(11 Suppl 1). – P. S54-64.
143. Coleman J.W. Nitric oxide: a regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation / J.W. Coleman // *Clin Exp Immunol.* – 2002. – V.129. – P.4-10.
144. Crivellato E., Beltrami C.A., Mallardi F., Ribatti D. The mast cell: an active participant or an innocent bystander? // *Histol. Histopathol.* – 2004. – V.19. – P. 259–270.
145. Cury V., Moretti A.I.S., Assis L., Bossini P., Crusca J.S., Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats

mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2 // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – V. 125. – P. 164-170.

146. Dahlin J.S., Hallgren J. Mast cell progenitors: Origin, development and migration to tissues // *Mol Immunol*. – 2014. pii. – P. S0161-5890(14)00034-0.

147. Dörtbudak O., Haas R., Mallath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser // *Clin Oral Implants Res*. – 2000. – V. 11(6). – P. 540-5.

148. Douaiher J., Succar J., Lancerotto L., Gurish M.F., Orgill D.P., Hamilton M.J., Krilis S.A., Stevens R.L. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing // *Adv Immunol*. – 2014. – V. 122. – P. 211-252.

149. Dvorak A.M. Ultrastructural studies of human basophils and mast cells // *J Histochem Cytochem*. – 2005. – V.53, N9. – P.1043-1070.

150. Dy M. Histamine-cytokine connection in immunity and hematopoiesis / M. Dy, E. Schneider // *Cytokine and Growth Factor Reviews*. – 2004. – V.15. – P.393-410.

151. Ebrahimi T., Moslemi N., Rokn A.R., Heidari M., Nokhbatolfoghahaie H. The Influence of Low-Intensity Laser Therapy on Bone Healing // *J Dent (Tehran)* . – 2012. – V. 9(4). – P. 238–248.

152. Ebrahimi T., Moslemi N., Rokn A., Heidari M., Nokhbatolfoghahaie H., Fekrazad R. The influence of low-intensity laser therapy on bone healing // *J Dent (Tehran)*. – 2012. – V. 9(4). – P. 238-48.

153. Ekström K., Valadi H., Sjöstrand M., Malmhäll C., Bossios A., Eldh M., Lötvall J. Characterization of mRNA and microRNA in human mast cell-derived exosomes and their transfer to other mast cells and blood CD34 progenitor cells // *J Extracell Vesicles*. - 2012. – V.1. doi: 10.3402/jev.v1i0.18389.

154. el Sayed S.O., Dyson M. Effect of laser pulse repetition rate and pulse duration on mast cell number and degranulation // *Lasers Surg Med.* – 1996. – V. 19(4). – P. 433-7.
155. El-Maghraby E.M., El-Rouby D.H., Saafan A.M. Assessment of the effect of low-energy diode laser irradiation on gamma irradiated rats' mandibles // *Arch Oral Biol.* – 2013. – V. 58(7). – P. 796-805.
156. Engels W., Reuters P.H., Daemen M.J., Smits J.F., van der Vusse G.J. Transmural changes in mast cell density in rat heart after infarct induction in vivo. // *J Pathol.* – 1995. – V. 177(4). – P. 423-429.
157. Engels W., Reuters P.H., Daemen M.J., Smits J.F., Van der Vusse G.J. Transmural changes in mast cell density in rat heart after infarct induction in vivo. // *J Pathol.* – 1995. – V. 177(4). – P. 423-429.
158. Entman M.L., Youker K.A., Frangogiannis N., Lakshminarayanan V., Nossuli T., Evans A., Kurrelmeyer K., Mann D.L., Smith C.W. Is inflammation good for the ischemic heart--perspectives beyond the ordinary // *Z Kardiol.* – 2000. – V. 89 Suppl 9. – P. IX/82-7.
159. Epelman S., Mann D.L. Communication in the Heart: the Role of the Innate Immune System in Coordinating Cellular Responses to Ischemic Injury // *Journal of Cardiovascular Translational Research.* – 2012. – V.5 - P. 827-836
160. Fairweather D., Frisancho-Kiss S., Yusung S.A., Barrett M.A., Davis S.E., Gatewood S.J., Njoku D.B., Rose N.R. Interferon-gamma protects against chronic viral myocarditis by reducing mast cell degranulation, fibrosis, and the profibrotic cytokines transforming growth factor-beta 1, interleukin-1 beta, and interleukin-4 in the heart // *Am J Pathol.* – 2004. – V. 165(6). – P. 1883-94.
161. Fantacci M., Bianciardi P., Caretti A. Carbamylated erythropoietin ameliorates the metabolic stress induced in vivo by severe chronic hypoxia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – V. 103. – N 46. – P. 17531–17536.

162. Ferrario M., Arbustini E., Massa M., Rosti V., Marziliano N., Raineri C., et al. High-dose erythropoietin in patients with acute myocardial infarction: a pilot, randomised, placebo-controlled study // *Int J Cardiol.* – 2011. – V. 147. – P. 124-131.
163. Fiore P., Panza F., Cassatella G., Russo A., Frisardi V., Solfrizzi V., Ranieri M., Di Teo L., Santamato A. Short-term effects of high-intensity laser therapy versus ultrasound therapy in the treatment of low back pain: a randomized controlled trial // *Eur J Phys Rehabil Med.* – 2011. – V. 47(3). – P. 367-373.
164. Fischer-Rasokat U., Assmus B., Seeger F.H. et al. A pilot trial to assess potential effects of selective intracoronary bone marrow-derived progenitor cell infusion in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy: final 1-year results of the transplantation of progenitor cells and functional regeneration enhancement pilot trial in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy // *Circ Heart Fail.* – 2009. – V. 2. – P. 417–423.
165. Fisher S.A. Bone Marrow Stem Cell Treatment for Ischemic Heart Disease in Patients with No Option of Revascularization: A Systematic Review and Meta-Analysis / Fisher SA, Dorée C, Brunskill SJ, Mathur A, Martin-Rendon E // *PLoS One.* 2013. – V. 8(6). – P. e64669.
166. Forman M.F., Brower G.L., Janicki J.S. Rat cardiac mast cell maturation and differentiation following acute ventricular volume overload // *Inflamm Res.* 2006. – V. 55. – P. 408–415.
167. Frangogiannis N.G. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodeling // *Nat Rev Cardiol.* – 2014 May. – V. 11(5). – P. 255-265.
168. Frossi B. The mast cell: an antenna of the microenvironment that directs the immune response. / B. Frossi, M. De Carli, C. Pucillo // *J Leukoc Biol.* – 2004. – V.75, N4. – P.579-585.

169. Fujimaki Y. Low-level laser irradiation attenuates production of reactive oxygen species by human neutrophils / Y. Fujimaki [et al] // *J Clin Laser Med Surg.* – 2003. – V.21, N3. – P.165-170.
170. Gaber M.A., Seliet I.A., Ehsan N.A., Megahed M.A. Mast cells and angiogenesis in wound healing // *Anal Quant Cytopathol Histopathol.* - 2014. – V.36(1). – P.32-40.
171. Gailit J., Marchese M.J., Kew R.R., Gruber B.L. The differentiation and function of myofibroblasts is regulated by mast cell mediators // *J Invest Dermatol.* – 2001. – V. 117(5). – P. 1113-1119.
172. Galli S.J. Mast cells and basophils // *Curr. Opin. Hematol.* – 2000. – V.4. – P.840-845.
173. Galli S.J., Kalesnikoff J., Grimbaldston M.A., Piliponsky A.M., Williams C.M., Tsai M. Mast cells as ‘tunable’ effector and immunoregulatory cells: recent advances // *Annu. Rev. Immunol.* – 2005. – V.23. - P.749-786
174. Garavello I. The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae / I. Garavello, V. Baranauskas, M.A. da Cruz-Hofling // *Histol Histopathol.* – 2004. – V.19, N1. – P.43-48.
175. Ghodsizad A., Bordel V., Bruckner B., Loebe M., Fuerst G., Mirsaidi I., Sucker M., Ruhparwar A., Karck M., Klein H.M. Clinical labeling and imaging of transplanted CD133+/CD34+ stem cells in patients with ischemic heart disease.// *Heart Surg Forum.* – 2012. – V. 15(2). – P. E116-18.
176. Giannelli M., Chellini F., Sassoli C., Francini F., Photoactivation of bone marrow mesenchymal stromal cells with diode laser: effects and mechanisms of action // *J Cell Physiol.* – 2013. – V. 228(1). – P. 172-181
177. Gilles S., Zahler S., Welsch U., Sommerhoff C.P., Becker B.F. Release of TNF-alpha during myocardial reperfusion depends on oxidative stress and is prevented by mast cell stabilizers // *Cardiovasc Res.* – 2003. – V. 60(3). – P. 608-616.

178. Global status report on noncommunicable diseases 2014. - WHO, 2014. - 280 p. - <http://www.who.int/global-coordination-mechanism/publications/global-status-report-ncds-2014-eng.pdf>
179. Gneccchi M., Danieli P., Cervio E. Mesenchymal stem cell therapy for heart disease // *Vascul Pharmacol.* – 2012. – V. 57(1). – P. 48-55.
180. Gowdak L.H., Schettert I.T., Rochitte C.E., Lisboa L.A., Dallan L.A., Cesar L.A., Krieger J.E., Ramires J.A., Oliveira S.A. Cell therapy plus transmyocardial laser revascularization for refractory angina // *Ann Thorac Surg.* – 2005. – V.80(2). – P. 712-714
181. Grable J. Comparative cytokine release from human monocytes, mast cells and human mast cell line / J. Grable, P. Welker, A. Meller // *J invest. Derm.* – 1994. – V.103. – P.504-511.
182. Gurish M.F. Mast cell growth, differentiation, and death / M.F. Gurish, J.A. Boyse // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2002. – V.22, N2. – P.107-125.
183. Guven Bagla A., Ercan E., Asgun H.F., Ickin M., Ercan F., Yavuz O., Bagla S., Kaplan A. Experimental acute myocardial infarction in rats: HIF-1 α , caspase-3, erythropoietin and erythropoietin receptor expression and the cardioprotective effects of two different erythropoietin doses // *Acta Histochem.* – 2013. – V.115. – P.658-68.
184. Guzzardella G.A., Fini M., Torricelli P., Giavaresi G., Giardino R.. Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study // *Lasers Med Sci.* – 2002. – V. 17(3). – P. 216–20.
185. Hallgren J. Pathways of murine mast cell development and trafficking: tracking the roots and routes of the mast cell / J. Hallgren, M.F. Gurish // *Immunological Reviews.* – 2007. – V.217, N1. – P.8-18.
186. Hasselblatt M., Ehrenreich H., Sirén A.L. The brain erythropoietin system and its potential for therapeutic exploitation in brain disease // *J. Neurosurg. Anesthesiol.* – 2006. – V. 18. – N 2. – P.132–138.
187. Hatzistergos K.E., Quevedo H., Oskouei B.N., Hu Q., Feigenbaum G.S., Margitich I.S., Mazhari R., Boyle A.J., Zambrano J.P., Rodriguez J.E.,

Dulce R., Pattany P.M., Valdes D., Revilla C., Heldman A.W., McNiece I., Hare J.M. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation // *Circulation Research*. – 2010. – V.107. – P.913-922

188. Hawkins D. How Long After Laser Irradiation Should Cellular Responses be Measured to Determine the Laser Effect? / D. Hawkins, H. Abrahams // *Journal of Laser Applications*. – 2007. – V.19, N2. – P.74-83.

189. Heissig B., Hattori K., Dias S., Friedrich M., Ferris B., Hackett N.R., Crystal R.G., Besmer P., Lyden D., Moore M.A., Werb Z., Rafii S. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand // *Cell*. – 2002. – V.109. – P.625–637.

190. Hermine O., Beru N., Pech N., Goldwasser E. An autocrine role for erythropoietin in mouse hematopoietic cell differentiation // *Blood*. – 1991. – V.78. – P.2253-2260.

191. Hong K.U., Bolli R. Cardiac stem cell therapy for cardiac repair // *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. – 2014 Jul. – V. 16(7). – P. 324.

192. Hoover-Plow J., Gong Y. Challenges for heart disease stem cell therapy // *Vasc Health Risk Manag*. 2012. – V. 8. – P. 99-113.

193. Hou J.F., Zhang H., Yuan X., Li J., Wei Y.J., Hu S.S. In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation // *Lasers Surg Med*. – 2008. – V. 40(10). – P. 726–33.

194. Jamur M.C. Identification and isolation of rat bone marrow-derived mast cells using the mast cell-specific monoclonal antibody AA4 / M.C. Jamur, A.C. Grodzki, A.N. Moreno [et al] // *J Histochem Cytochem*. – 2001. – V.49, N2. – P.219-228.

195. Janicki J.S, Browe G.L., Jason D. Gardner J.D. et al. Cardiac mast cell regulation of matrix metalloproteinase-related ventricular remodeling in

chronic pressure or volume overload

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.10.020> 657-665.

196. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin // Intern Med. – 2004. – V. 43(8). – P. 649-659

197. Jiménez-Andrade G.Y., Ibarra-Sánchez A., González D., Lamas M., González-Espinosa C. Immunoglobulin E induces VEGF production in mast cells and potentiates their pro-tumorigenic actions through a Fyn kinase-dependent mechanism // J Hematol Oncol. – 2013. – V.6. – P.56. doi: 10.1186/1756-8722-6-56.

198. Jin R., Huang X., Li H., Yuan Y., Li B., Cheng C., Li Q. Laser therapy for prevention and treatment of pathologic excessive scars // Plast Reconstr Surg. 2013. – V. 132(6). – P. 1747-1758.

199. Kandala J., Upadhyay G.A., Pokushalov E., Wu S., Drachman D.E., Singh J.P. Meta-analysis of stem cell therapy in chronic ischemic cardiomyopathy // Am J Cardiol. 2013. – V. 112(2). – P. 217-225.

200. Kao M.J. Effects of infrared and low-power laser irradiation on cell viability, glutathione and glutathione-related enzyme activities in primary rat hepatocytes / M.J. Kao, L.Y. Sheen // J Formos Med Assoc. – 2003. – V.102(7). – P.486-491.

201. Karimi K. Redegeld F.A., Blom R., Nijkamp F.P. Stem cell factor and interleukin-4 increase responsiveness of mast cells to substance P // Exp Hematol. – 2000. – V.28(6). – P.626-634.

202. Karu T. Is It Time to Consider Photobiomodulation As a Drug Equivalent? // Photomedicine and Laser Surgery. – 2013. – V. 31(5). – P. 189-191

203. Karu T.I. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide / T.I. Karu, L.V. Pyatibrat, N.I. Afanasyeva // Lasers Surg Med. – 2005. – V.36(4). – P.307-314.

204. Karu T.I. Low power laser therapy / T.I Karu // In: Biomedical Photonics Handbook, Boca Raton, USA: CRC Press. 2003. – P.48.1–24.

205. Karu T.I. Multiple roles of cytochrome c oxidase in mammalian cells under action of red and IR-A radiation // *IUBMB Life*. – 2010. – V. 62. – P.607–610.
206. Karu, T.I. Nonmonotonic behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed laser radiation at $\lambda = 820$ nm / T.I. Karu, L.V. Pyatibrat, T.P. Ryabykh // *Lasers Surg Med*. – 1997. – V.21(5). – P.485-492.
207. Karu, T.I., Pyatibrat, L.V., Kolyakov, S.F., Afanasyeva, N.I. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation // *J. Photochem. Photobiol. B Biol*. – 2005. – v.81. – 98–106.
208. Kashiwakura J., Otani I.M., Kawakami T. Monomeric IgE and mast cell development, survival and function // *Adv Exp Med Biol*. – 2011. – V. 716. – P. 29-46.
209. Kennedy S., Wu J., Wadsworth R.M., Lawrence C.E., Maffia P. Mast cells and vascular diseases // *Pharmacol Ther*. – 2013. – V. 138(1). – P. 53-65.
210. Khadra, M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies / M. Khadra // *Swed Dent J Suppl*. – 2005. – V.172. – P.1-63.
211. Kheshie A.R., Alayat M.S., Ali M.M. High-intensity versus low-level laser therapy in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial // *Lasers Med Sci*. – 2014. – V. 29(4). – P. 1371-1376
212. Kim S., Jun J.H., Kim J., Kim do W., Jang Y.H., Lee W.J., Chung H.Y., Lee S.J. HIF-1 α and VEGF expression correlates with thrombus remodeling in cases of intravascular papillary endothelial hyperplasia // *Int J Clin Exp Pathol*. – 2013. – V.6(12). – 2912-2918.
213. Kinet J.P. Review The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. // *Immunol Rev*. – 2007. – V.217. – P.5-7.

214. Kitamura, Y. Molecular mechanisms of mast cell development / Y. Kitamura, K. Oboki, A. Ito // *Immunol Allergy Clin North Am.* – 2006. – V.26(3). – P.387-405.
215. Kolesnikova A.I., Kubasova T., Konoplyannikov A.G., Köteles G.J. Cellular alterations upon IR-laser (890 nm) exposures, in vivo / A.I. Kolesnikova [et al] // *Pathol Oncol Res.* – 1998. – V.4(1). – P.22-26.
216. Konstany-Kalandyk J., Piątek J., Miszański-Jamka T., Rudziński P., Walter Z., Bartuś K., Urbańczyk-Zawadzka M., Sadowski J. The combined use of transmyocardial laser revascularisation and intramyocardial injection of bone-marrow derived stem cells in patients with end-stage coronary artery disease: one year follow-up // *Kardiologia Pol.* – 2013. – V. 71(5). – P. 485-492.
217. Kreisler M. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts / M. Kreisler [et al] // *Lasers Surg Med.* – 2002. – V.30(5). – P.365-369.
218. Krishnaswamy G. The human mast cell an overview / G. Krishnaswamy, O. Ajitawi, D.S. Chi // *Methods Mol Biol.* – 2006. – V.315. – P.13-34.
219. Kujawa J. Effect of Low-Intensity (3.75-25 J/cm²) Near-Infrared (810 nm) Laser Radiation on Red Blood Cell ATPase Activities and Membrane Structure / J. Kujawa, L. Zavodnik, I. Zavodnik [et al] // *J Clin Laser Med Surg.* – 2004. – V.22(2). – P.111-117.
220. Lan C.C.E., Wu C.-S., Chiou Y.-H., Chiang T.Y., Yu H.S.. Low-energy He-Ne laser induced melanocyte proliferation via interaction with type IV collagen: visible light as a therapeutic option for vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2009. – V.161. – P. 273–280.
221. Lapchak P.A. Taking a light approach to treating acute ischemic stroke patients: transcranial near infrared laser therapy in translational science // *Ann. Med.* – 2010. – V.42. – P.576–586.

222. Lee S., Kim T.H., Youn J.I. Development of the theragnostic optical system for a high-intensity laser therapy (HILT) // *Lasers Med Sci.* – 2014. – V.29(5). – P.1585-91.
223. Levick S.P., Meléndez G.C., Plante E., McLarty J.L., Brower G.L., Janicki J.S. Cardiac mast cells: the centrepiece in adverse myocardial remodeling // *Cardiovasc Res.* – 2011. – V. 89(1). – P. 12-19.
224. Li J., Lu H., Plante E., Meléndez G.C., Levick S.P., Janicki J.S. Stem cell factor is responsible for the rapid response in mature mast cell density in the acutely stressed heart // *J Mol Cell Cardiol.* – 2012. – V. 53(4). – P. 469-474.
225. Lindgård A., Hultén L.M., Svensson L., Soussi B. Irradiation at 634 nm releases nitric oxide from human monocytes / A. Lindgård [et al] // *Lasers in Medical Science.* – 2007. – V.22(1). – P.30-36.
226. Loffredo F.S., Steinhauser M.L., Gannon J., Lee R.T. Bone marrow-derived cell therapy stimulates endogenous cardiomyocyte progenitors and promotes cardiac repair // *Cell Stem Cell.* – 2011. – V. 8(4). – P. 389-398.
227. Loffredo S., Staiano R.I., Granata F., Genovese A., Marone G. Immune cells as a source and target of angiogenic and lymphangiogenic factors // *Chem Immunol Allergy.* –2014. – V. 99. – P. 15-36.
228. Mackie A.R., Losordo D.W. CD34-positive stem cells: in the treatment of heart and vascular disease in human beings // *Tex Heart Inst J.* – 2011. – V. 38(5). – P. 474-485
229. Majka M, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J, Ehrenman K, Pietrzkowski Z, Kowalska MA, Gewirtz AM, Emerson SG, Ratajczak MZ. Numerous growth factors, cytokines, and chemokines are secreted by human CD34(+) cells, myeloblasts, erythroblasts, and megakaryoblasts and regulate normal hematopoiesis in an autocrine/paracrine manner // *Blood.* – 2001. – V.97(10). – P.3075-3085.

230. Mannaioni P.F. Masini E., Pistelli A., Salvemini D., Vane J.R. Mast cells as a source of superoxide anions and nitric oxide-like factor: relevance to histamine release // *Int. J. Tissue React.* – 1991. – V.13. – P.271-278.
231. Marone G. The histamine-cytokine network in allergic inflammation / G. Marone, F. Granata, G. Spadaro // *J Allergy Clin Immunol.* – 2003. – V.112. – P.83-88.
232. Metcalfe, D.D. Mast cells / D.D. Metcalfe, D. Baram, Y. Mekori // *Physiol Rev.* – 1997. – V.77. – P.1033-1079.
233. Mi, X.Q. Effect of low power laser irradiation on disconnecting the membrane-attached hemoglobin from erythrocyte membrane / X.Q. Mi, J.Y. Chen, L.W. Zhou // *J Photochem Photobiol B.* – 2006. – V.83(2). – P.146-150.
234. Migliario M., Pittarella P., Fanuli M., Rizzi M., Renò F. Laser-induced osteoblast proliferation is mediated by ROS production // *Lasers Med Sci.* – 2014. – V. 29(4). – P. 1463-1467.
235. Mintz P.J., Huang K.W., Reebye V., Nteliopoulos G., Lai H.S., Sætrum P., Kasahara N., Jensen S., Pai M., Gordon M.Y., Marley S.B., Behan R., Spalding D.R., Haoudi A., Emara M.M., Nicholls J., Rossi J.J., Habib N.A. Exploiting human CD34+ stem cell-conditioned medium for tissue repair // *Mol Ther.* – 2014. – V.22(1) . – P.149-59.
236. Moges H., Wu X., McCoy J., Vasconcelos O.M., Bryant H., Grunberg N.E., Anders J.J. Effect of 810 nm light on nerve regeneration after autograft repair of severely injured rat median nerve // *Lasers Surg. Med.* – 2011. – V.43. – P. 901–906.
237. Mollasadeghi A., Mirmohammadi S.J., Mehrparvar A.H., Davari M.H., Shokouh P., Mostaghaci M., Baradaranfar M.H., Bahaloo M. Efficacy of low-level laser therapy in the management of tinnitus due to noise-induced hearing loss: a double-blind randomized clinical trial // *Scientific World Journal.* – 2013. – doi:10.1155/2013/596076.

238. Möller A., Lippert U., Lessmann D., et al. Human mast cells produce IL-8 // *J Immunol.* – 1993. – V.151. – P.3261-3266.
239. Montagner S., Orlandi E.M., Merante S., Monticelli S. The role of miRNAs in mast cells and other innate immune cells // *Immunol Rev.* – 2013. – V.253(1). – P.12-24.
240. Nagareddy P.R., Asfour A., Klyachkin Y.M., Abdel-Latif A. A novel role for bioactive lipids in stem cell mobilization during cardiac ischemia New paradigms in thrombosis: novel mediators and biomarkers // *J Thromb Thrombolysis.* – 2014. – V. 37(1). – P. 24–31.
241. Nakae S. Mast cell-derived TNF can promote Th17 cell-dependent neutrophil recruitment in ovalbumin-challenged OTII mice / S. Nakae, H. Suto, G.J. Berry [et al] // *Blood.* – 2007. – V.109(9). – P.3640-3648.
242. Nakano M., Satoh K., Fukumoto Y., Ito Y., Kagaya Y., Ishii N., et al. Important role of erythropoietin receptor to promote VEGF expression and angiogenesis in peripheral ischemia in mice // *Circ Res.* – 2007. – V. 100. – P. 662-669.
243. Nienartowicz A. Mast cells in neoangiogenesis / A. Nienartowicz, M.E. Sobaniec-Łotowska, E. Jarocka-Cyrta // *Med Sci Monit.* – 2006. – V.12(3). – P.RA53-6.
244. Norrby K. Mast cells and angiogenesis // *APMIS.* – 2002. – V.10(5). – P.355-371.
245. Nursalim A., Katili P.A., Santoso T. Cellular cardiomyoplasty for myocardial infarction: a 2014 evidence-based update // *Acta Med Indones.* – 2014. – V. 46(2). – P. 150-162.
246. Ohkubo T. Autoregulation of histamine release via the histamine H3 receptor on mast cells in the rat skin / T. Ohkubo , M. Shibata , M. Inoue , H Kaya, H. Takahashi // *Arch Intern Pharmacodyn. Ther.* – 1994. – V.328. – P. 307-314.
247. Ohls R.K., Li Y., Trautman M.S., Christensen R.D. Erythropoietin production by macrophages from preterm infants: implications regarding the

- cause of the anemia of prematurity // *Pediatr Res.* – 1994. – V.35. – P.169-170.
248. Okabe T. Bone marrow derived mast cell acquire responsiveness to substance P with Ca(2+) signals and release of leukotriene B(4) via mitogen-activated protein kinase / T. Okabe, M. Hide, T. Hiragun [et al] // *J Neuroimmunol.* – 2006. – V.181, N.1-2. – P.1-12.
249. Okayama Y. Development, migration, and survival of mast cells / Y. Okayama, T. Kawakami // *Immunol Res.* – 2006. – V.34, N2. – P.97-115.
250. Okayama Y. Mast cell derived cytokine expression induced via Fc receptors and Toll-like receptors / Y. Okayama // *Chem Immunol Allergy.* – 2005. – V.87. – P.101-111.
251. Olivetti G., Lagrasta C., Ricci R., Long-term pressure-induced cardiac hypertrophy: capillary and mast cell proliferation. // *Am J Physiol* 1989; 257:H1766–H1772.
252. Oron U. Light therapy and stem cells: A therapeutic intervention of the future // *Journal of Interventional Cardiology.* – 2011. – V.3. – P. 627-629.
253. Park I.S., Chung P.S., Ahn J.C. Enhanced angiogenic effect of adipose-derived stromal cell spheroid with low-level light therapy in hind limb ischemia mice // *Biomaterials.* – 2014. – V. 35(34). – P. 9280-9289.
254. Patel A.N., Spadaccio C., Kuzman M., Park E., Fischer D.W., Stice S.L., Mullangi C., Toma C: Improved cell survival in infarcted myocardium using a novel combination transmyocardial laser and cell delivery system // *Cell Transplant.* – 2007. – V.16(9). – P. 899-905.
255. Patella V., de-Crescenzo G., Lamparter-Schummert B., De Rosa G., () Increased cardiac mast cell density and mediator release in patients with dilated cardiomyopathy. // *Inflamm Res.* - 1997.-46:S31–S32.
256. Patella V., Marinò I., Arbustini E., et al. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy.// *Circulation.*- 1998.-97:971–978.

257. Pereira A.N. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts / A.N. Pereira, P. Eduardo Cde, E. Matson [et al] // *Lasers Surg Med.* – 2002. – V.31, N4. – P.263-267.
258. Pereira T.S., Flecha O.D., Guimarães R.C., de Oliveira D., Botelho A.M., Ramos Glória J.C., Aguiar Tavano K.T. Efficacy of red and infrared lasers in treatment of temporomandibular disorders--a double-blind, randomized, parallel clinical trial // *Cranio.* – 2014. – V. 32(1). – P. 51-56.
259. Pinheiro A.L. Mast cells in laser and surgical wounds / A.L. Pinheiro [et al.] // *Braz Dent J.* – 1995. – V.6(1). – P.11-17.
260. Primo F.L., da Costa Reis M.B., Porcionatto M.A., Tedesco A.C. In vitro evaluation of chloroaluminum phthalocyanine nanoemulsion and low-level laser therapy on human skin dermal equivalents and bone marrow mesenchymal stem cells // *Curr Med Chem.* – 2011. – V. 18(22). – P. 3376-3381.
261. Pyczek, M. Effect of low-energy laser power on the bone marrow of the rat / M. Pyczek, M. Sopala, Z. Dabrowski // *Folia Biol (Krakow).* – 1994. – V.42, N3-4. – P.151-156.
262. Reid A.C., Brazin J.A., Morrey C., Silver R.B., Levi R. Targeting cardiac mast cells: pharmacological modulation of the local renin-angiotensin system // *Curr Pharm Des.* – 2011. – V. 17(34). – P. 3744-3752.
263. Ren G., Dewald O., Frangogiannis N.G. Inflammatory mechanisms in myocardial infarction. // *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* – 2003. – V. 2(3). – P. 242-256.
264. Reyes G., Allen K.B., Aguado B., Duarte J. Bone marrow laser revascularisation for treating refractory angina due to diffuse coronary heart disease // *Eur J Cardiothorac Surg.* – 2009. – V. 36(1). – P. 192-194.
265. Reyes G., Allen K.B., Alvarez P., Alegre A., Aguado B., Olivera M., Caballero P., Rodríguez J., Duarte J. Mid term results after bone marrow laser revascularization for treating refractory angina // *BMC Cardiovasc Disord.* – 2010. – V. 10. – P. 42. – doi: 10.1186/1471-2261-10-42.

266. Rich I.N. A role for the macrophage in normal hemopoiesis. II. Effect of varying physiological oxygen tensions on the release of hemopoietic growth factors from bone-marrow-derived macrophages in vitro // *Exp Hematol.* 1986 Sep. – V. 14(8). – P. 746-751.
267. Rich I.N. Haemopoietic regulation and the role of the macrophage in erythropoietic gene expression // *Adv Exp Med Biol.* – 1988. – V.241. – P.55-66.
268. Rich I.N., Heit W., Kubanek B. External erythropoietin production by macrophages // *Blood.* – 1982. - V.60. – P.1007-1017
269. Rivera J., Gilfillan A.M. Molecular regulation of mast cell activation // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – V.117. - P.1214-1225
270. Sanchis-Gomar F, Garcia-Gimenez JL, Pareja-Galeano H, Romagnoli M, Perez-Quilis C, Lippi G. Erythropoietin and the heart: physiological effects and the therapeutic perspective // *Int J Cardiol.* – 2014. – V. 171(2). – P. 116-25.
271. Sanganalmath S.K., Abdel-Latif A., Bolli R., Xuan Y.T., Dawn B. Hematopoietic cytokines for cardiac repair: mobilization of bone marrow cells and beyond // *Basic Res Cardiol.* – 2011. – V. 106(5). – P. 709-733
272. Santamato A., Solfrizzi V., Panza F., Tondi G., Frisardi V., Leggin B.G., Ranieri M., Fiore P. Short-term effects of high-intensity laser therapy versus ultrasound therapy in the treatment of people with subacromial impingement syndrome: a randomized clinical trial // *Phys Ther.* – 2009 Jul. – V.89(7). – P. 643-652.
273. Santos J, Yates D, Guilarte M, Vicario M, Alonso C, Perdue MH. Stress neuropeptides evoke epithelial responses via mast cell activation in the rat colon // *Psychoneuroendocrinology.* 2008 Oct. – V. 33(9). – P. 1248-56.
274. Saygun I, Nizam N, Ural AU, Serdar MA, Avcu F, Tozum TF. Low-level laser irradiation affects the release of basic fibroblast growth factor

- (bFGF), insulin-like growth factor-I (IGF-I), and receptor of IGF-I (IGFBP3) from osteoblasts // *Photomed Laser Surg.* 2012 Mar. – V. 30(3). – P. 149–54.
275. Schiffer, F., Johnston, A.L., Ravichandean, C., Polcari, A., Teicher, M.H., Webb, R.H., and Hamblin, M.R. (2009). Psychological benefits 2 and 4 weeks after a single treatment with NIR to the forehead: a pilot study of 10 patients with major depression and anxiety. *Behav. Brain Funct.* 5, 46.
276. Schmetzer O, Valentin P, Smorodchenko A, Domenis R, Gri G, Siebenhaar F, Metz M, Maurer M. A novel method to generate and culture human mast cells: Peripheral CD34+ stem cell-derived mast cells (PSCMCs) // *J Immunol Methods.* – 2014. - V.413. – 62-68.
277. Seth S., Narang R., Bhargava B. et al. Percutaneous intracoronary cellular cardiomyoplasty for nonischemic cardiomyopathy: clinical and histopathological results: the first-in-man ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial. // *J Am Coll Cardiol.* 2006. – V. 48. – P. 2350–1.
278. Shaik-Dasthagirisaheb Y.B., Varvara G., Murmura G., Saggini A., Potalivo G., Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation // *Int J Immunopathol Pharmacol.* -2013 -Apr-Jun. – V. 26(2). – P. 327-35.
279. Shaw, V.E., Spana, S., Ashkan, K. Benabid AL, Stone J, Baker GE, and Mitrofanis, J. (2010). Neuroprotection in midbrain dopaminergic cells in MPTP-treated mice after near-infrared light treatment. *J. Comp. Neurol.* 518, 25–40.
280. Shefer G. Low-energy laser irradiation promotes the survival and cell cycle entry of skeletal muscle satellite cells / G. Shefer [et al] // *J Cell Sci.* – 2002. – V.115, NPt 7. – P.1461-1469.
281. Shelburne, C.P. The role of Th2 cytokines in mast cell homeostasis / C.P. Shelburne, J.J. Ryan // *Immunology.* – 2001. – V.179. – P.82-93.
282. Shiota N., Rysä J., Kovanen P.T., Ruskoaho H., Kokkonen J.O., Lindstedt K.A. A role for cardiac mast cells in the pathogenesis of

- hypertensive heart disease. // *J Hypertens.* 2003 Oct. – V. 21(10). – P. 1935-44.
283. Smith JN, Calvi LM. Concise review: Current concepts in bone marrow microenvironmental regulation of hematopoietic stem and progenitor cells // *Stem Cells.* 2013 Jun. – V. 31(6). – P. 1044-50.
284. Snyder S.K. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment / S.K. Snyder, K.R. Byrnes, R.C. Borke [et al] // *Lasers Surg Med.* 2002. – V.31, N3. – P.216-222.
285. Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y, Kaka G. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts--an in vitro study // *Lasers Med Sci.* 2012 Mar. – V. 27(2). – P. 423-30.
286. Somasundaram P, Ren G, Nagar H, Kraemer D, Mendoza L, Michael LH, Caughey GH, Entman ML, Frangogiannis NG Mast cell tryptase may modulate endothelial cell phenotype in healing myocardial infarcts. // *J Pathol.* 2005 Jan. – V. 205(1). – P. 102-11.
287. Souza NH, Ferrari RA, Silva DF, Nunes FD, Bussadori SK, Fernandes KP. Effect of low-level laser therapy on the modulation of the mitochondrial activity of macrophages // *Braz J Phys Ther.* 2014 Aug. – V. 18(4). – P. 308-14.
288. Stevens R.L., Adachi R. Protease–proteoglycan complexes of mouse and human mast cells and importance of their β -tryptase–heparin complexes in inflammation and innate immunity // *Immunol. Rev.* 2007. – V. 217. – P. 155–167.
289. Stewart J.A. Jr., Wei C.C., Brower G.L., et al. Cardiac mast cell- and chymase-mediated matrix metalloproteinase activity and left ventricular remodeling in mitral regurgitation in the dog.// *J Mol Cell Cardiol.*- 2003.- 35:311–319

290. Swindle, E.J. Rodent and human mast cells produce functionally significant intracellular reactive oxygen species but not nitric oxide / E.J. Swindle, D.D. Metcalfe, J.W. Coleman // *J. Biol. Chem.* – 2004. – V.279(47). – P.48751-48759.
291. Swindle, E.J. The role of reactive oxygen species and nitric oxide in mast cell-dependent inflammatory processes / E.J. Swindle, D.D. Metcalfe // *Immunol Rev.* – 2007. – V.217. – P.186-205.
292. Talan M.I., Latini R. Myocardial infarction: cardioprotection by erythropoietin // *Methods Mol Biol.* – 2013. – V. 982. – P. 265-302.
293. Taniguchi N., Nakamura T., Sawada T., Matsubara K., Furukawa K., Hadase M., Nakahara Y., Nakamura T., Matsubara H. Erythropoietin prevention trial of coronary restenosis and cardiac remodeling after ST-elevated acute myocardial infarction (EPOC-AMI): a pilot, randomized, placebo-controlled study // *Circ J.* – 2010. – V. 74. – P. 2365-2371.
294. Theoharides T.C., Enakuaa S., Sismanopoulos N., Asadi S., Papadimas E.C., Angelidou A., Alysandratos K.D. Contribution of stress to asthma worsening through mast cell activation // *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2012. – V. 109(1). – P. 14-19.
295. Theoharides T.C., Zhang B., Kempuraj D., Tagen M., Vasiadi M., Angelidou A., Alysandratos K.D., Kalogeromitros D., Asadi S., Stavrianeas N., Peterson E., Leeman S., Conti P. IL-33 augments substance P-induced VEGF secretion from human mast cells and is increased in psoriatic skin // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2010. – V.107(9). – P.4448-4453.
296. Trimmer P.A., Schwartz K.M., Borland M.K., De Taboada L., Streeter J., Oron U. Reduced axonal transport in Parkinson's disease cybrid neurites is restored by light therapy // *Mol Neurodegener.* – 2009. – V.4. – P.26. – doi: 10.1186/1750-1326-4-26.
297. Trivedi N.H., Guentzel M.N., Rodriguez A.R., Yu J.J., Forsthuber T.G., Arulanandam BP. Mast cells: multitasking facilitators of protection against

bacterial pathogens // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2013. – V. 9(2). – P. 129-38.

298. Tuby H., Hertzberg E., Maltz L., Oron U. Long-term safety of low-level laser therapy at different power densities and single or multiple applications to the bone marrow in mice // *Photomed Laser Surg.* – 2013. – V. 31(6). – P. 269-273.

299. Tuby H., Maltz L., Oron U. Implantation of low-level laser irradiated mesenchymal stem cells into the infarcted rat heart is associated with reduction in infarct size and enhanced angiogenesis // *Photomed Laser Surg.* – 2009. – V. 27(2). – P. 227-33.

300. Tuby H., Maltz L., Oron U. Induction of autologous mesenchymal stem cells in the bone marrow by low-level laser therapy has profound beneficial effects on the infarcted rat heart // *Lasers Surg Med.* – 2011. – V. 43(5). – P. 401-409.

301. Tuby H., Maltz L., Oron U. Low-level laser irradiation (LLLI) promotes proliferation of mesenchymal and cardiac stem cells in culture // *Lasers Surg Med.* – 2007. – V. 39(4). – P. 373-378.

302. Tuby H., Maltz L., Oron U. Modulations of VEGF and iNOS in the rat heart by low level laser therapy are associated with cardioprotection and enhanced angiogenesis // *Lasers Surg Med.* – 2006. – V. 38(7). – P. 682-688.

303. Tuby H., Yaakobi T., Maltz L., Delarea Y., Sagi-Assif O., Oron U. Effect of autologous mesenchymal stem cells induced by low level laser therapy on cardiogenesis in the infarcted area following myocardial infarction in rats // *Journal of Biomedical Science and Engineering.* – 2013. – V.6. – P.24-31.

304. Tyagi S. Temporal expression of extracellular matrix metalloproteinases and tissue plasminogen activator in the development of collateral vessels in the canine model of coronary occlusion / S.Tyagi, S. Kumar, S. Cassatt // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1996. – V.74. – P.983-995.

305. Uemoto L., Nascimento de Azevedo R., Almeida Alfaya T., Nunes Jardim Reis R., Depes de Gouvêa C.V., Cavalcanti Garcia M.A. Myofascial trigger point therapy: laser therapy and dry needling // *Curr Pain Headache Rep.* – 2013. – V.17(9). – P. 357.
306. Vacek A. Increase in the capacity of bone marrow exposed to He-Ne laser radiation for growth of GM-CFC colonies in vitro / A. Vacek, A. Bartoníková, D. Rotkovská // *Folia Biol (Praha).* – 1990. – V.36(1). – P.65-70.
307. van den Akker F., de Jager S.C., Sluijter J.P. Mesenchymal stem cell therapy for cardiac inflammation: immunomodulatory properties and the influence of toll-like receptors // *Mediators Inflamm.* – 2013. – V. 2013. – P. 181020. – doi: 10.1155/2013/181020.
308. Vogt C., Pentz S., Rich I.N: A role for the macrophage in normal hematopoiesis: III. In vitro and in vivo erythropoietin gene expression in macrophages detected by in situ hybridization // *Exp Hematol.* – 1989. - V.17. – P.391-397.
309. Voituron N., Jeton F., Cholley Y., et.al. Catalyzing role of erythropoietin on the nitric oxide central pathway during the ventilatory responses to hypoxia // *Physiol Rep.* – 2014. – V. 2(2). – P. e00223.
310. Vrtovec B., Poglajen G., Lezaic L., et.al. Effects of intracoronary CD34+ stem cell transplantation in nonischemic dilated cardiomyopathy patients: 5-year follow-up // *Circ Res.* 2013. – V. 112(1). – P. 165-173.
311. Wang Y., Luther K. Genetically manipulated progenitor/stem cells restore function to the infarcted heart via the SDF-1 α /CXCR4 signaling pathway // *Prog Mol Biol Transl Sci.* - 2012. – V.111. – P.265-284.
312. Weller C.L., Collington S.J., Williams T., Lamb J.R. Mast cells in health and disease // *Clin Sci (Lond).* – 2011. – V. 120(11). – P. 473-84.
313. Weller K., Foitzik K., Paus R., Syska W., Maurer M. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice // *FASEB J.* – 2006. – V. 20. – P. 2366–2368.

314. Wiedenmann T., Ehrhardt S., Cerny D., Hildebrand D., Klein S., Heeg K., Kubatzky K.F. Erythropoietin acts as an anti-inflammatory signal on murine mast cells // *Mol Immunol.* – 2015. – V.65(1). – P.68-76.
315. Wulff B.C., Wilgus T.A. Mast cell activity in the healing wound: more than meets the eye? // *Experimental Dermatology.* – 2013. – V.22. – P. 507–510.
316. Xue J., Du G., Shi J., et.al.. Combined treatment with erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor enhances neovascularization and improves cardiac function after myocardial infarction // *Chin Med J (Engl).* – 2014. – V.127(9). – P. 1677-1683.
317. Yang Y., Chen Q.H., Liu A.R. .Synergism of MSC-secreted HGF and VEGF in stabilising endothelial barrier function upon lipopolysaccharide stimulation via the Rac1 pathway.//*Stem Cell Res Ther.* 2015 Dec 16;6(1):250. doi: 10.1186/s13287-015-0257-0.
318. Yang Z., Wu Y., Zhang H., Jin P., Wang W., Hou J., Wei Y., Hu S. Low-level laser irradiation alters cardiac cytokine expression following acute myocardial infarction: a potential mechanism for laser therapy // *Photomed.Laser Surg.* – 2011. – 29. – P. 391–398.
319. Yong L.C. The mast cell: origin, morphology, distribution, and function // *Exp Toxicol Pathol.* – 1997. – V.49(6). – P.409-433.
320. Yousefi-Nooraie R., Schonstein E., Heidari K. et.al. Low level laser therapy for nonspecific low-back pain // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2007. – N.2. – P. CD005107. – doi:10.1002/14651858.CD005107.pub4.
321. Zafiriou M.P., Noack C., Unsöld B., et.al. Erythropoietin responsive cardiomyogenic cells contribute to heart repair post myocardial infarction // *Stem Cells.* – 2014. – V. 32(9). – P. 2480-2491.
322. Zhang J, Li X, Xu J, Ernst E. Laser acupuncture for the treatment of asthma in children: a systematic review of randomized controlled trial // *J Asthma.* – 2012. – V. 49(7). – P. 773-7.

323. Zhang R., Yasushi M., Pratt P.F., et al. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism // J. Mol. Cell Cardiol. – 2009. – V.46. – P.4–14.