

## Динамика гиперхромных и MyoD-позитивных ядер регенерирующих скелетных мышц при инфракрасной фотомодуляции

Р.В. Тахавиев, Г.В. Брюхин, Е.С. Головнева

ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск, Россия

**Резюме. Введение.** В настоящее время не существует методик, позволяющих в полной мере восстановить скелетную мышечную ткань после травмы. Инфракрасное лазерное воздействие является универсальным физиотерапевтическим фактором, используемым с целью активации пролиферации, увеличения активности ферментов, уменьшения воспаления и отека. При этом не изучено влияние времени экспозиции инфракрасного лазерного облучения на активацию миосателлитцитов. Целью исследования являлся анализ влияния длительности инфракрасного лазерного облучения на состояние клеток камбиального резерва в регенерирующей скелетной мышечной ткани.

**Материалы и методы.** В эксперименте (128 самцов крыс Вистар) были сформированы четыре группы: 0 – интактный контроль; I (динамический контроль) – резаная рана *m. gastrocnemius*; II – лазерное облучение раны с экспозицией 60 секунд; III – лазерное облучение раны с экспозицией 180 секунд. Лазер применялся в непрерывном режиме, мощность 1,0 Вт. Проведено морфологическое исследование площади гиперхромных мышечных ядер и плотности расположения MyoD<sup>+</sup> ядер на разных сроках эксперимента.

**Результаты.** В группе применения инфракрасного лазерного облучения с экспозицией 180 секунд площадь гиперхромных ядер в 1-е сутки снижалась, а на 7-е сутки была на 30% больше, чем в динамическом контроле. Плотность расположения MyoD<sup>+</sup> ядер в группах с применением лазера увеличивалась по сравнению с динамическим контролем на сроке 3 суток вне зависимости от времени экспозиции, однако на 7-е сутки количество ядер было выше в группе с экспозицией 60 секунд.

**Заключение.** После применения инфракрасного лазера с экспозицией 60 секунд преимущественно повышается плотность расположения MyoD<sup>+</sup> ядер, лазерное воздействие 180 секунд сильнее влияет на прирост площади гиперхромных ядер мышечной ткани.

**Ключевые слова:** скелетная мышечная ткань, регенерация, инфракрасный лазер, гиперхромные ядра, MyoD

**Для корреспонденции:** Ростислав Винерович Тахавиев. E-mail: rkenpachi@bk.ru

**Для цитирования:** Тахавиев Р.В., Брюхин Г.В., Головнева Е.С. Динамика гиперхромных и MyoD-позитивных ядер регенерирующих скелетных мышц при инфракрасной фотомодуляции. Клини. эксп. морфология. 2024;13(1):34–41. DOI: 10.31088/CEM2024.13.1.34-41.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 10.05.2023. Получена после рецензирования 24.05.2023. Принята в печать 20.06.2023.

## Dynamics of hyperchromic and MyoD-positive nuclei of regenerating skeletal muscles during infrared photomodulation

R. V. Takhaviev, G. V. Bryukhin, E. S. Golovneva

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

**Abstract. Introduction.** Currently, there are no techniques that allow to fully restore skeletal muscle tissue after injury. Infrared laser exposure is a universal physiotherapeutic method used to activate proliferation, increase enzyme activity, and reduce inflammation and edema. At the same time, the influence of the exposure time of infrared laser irradiation on the activation of myosatellite cells has been poorly studied. The paper aimed to analyze the effect of the duration of infrared laser irradiation on the state of cambial reserve cells in regenerating skeletal muscle tissue.

**Materials and methods.** In the experiment (128 male Wistar rats), 4 groups were formed: 0 – intact group; I (dynamic control) – incised wound *m. gastrocnemius*; II – laser irradiation of the wound with a 60-second

exposure; and III – laser irradiation of the wound with a 180-second exposure. The laser was used in a continuous mode, the power being 1.0 W. We performed a morphological study of the area of hyperchromatic muscle nuclei and the density of MyoD<sup>+</sup> nuclei at different periods of the experiment.

**Results.** In group III, the area of hyperchromatic nuclei decreased on day 1, and on day 7, it was 30% more than in group I. The density of the arrangement of MyoD<sup>+</sup> nuclei in groups II and III increased compared to that in group I for a period of 3 days, regardless of the exposure time. However, on day 7, the number of nuclei was greater in group II.

**Conclusion.** After the use of an infrared laser with a 60-second exposure, the density of MyoD<sup>+</sup> nuclei increases, whereas the effect of a 180-second laser exposure has a more dramatic effect on the increase in the area of hyperchromic nuclei of muscle tissue.

**Keywords:** skeletal muscle tissue, regeneration, infrared laser, hyperchromic nuclei, MyoD

**Corresponding author:** Rostislav V. Takhaviev. E-mail: rkenpachi@bk.ru

**For citation:** Takhaviev R.V., Bryukhin G.V., Golovneva E.S. Dynamics of hyperchromic and MyoD-positive nuclei of regenerating skeletal muscles during infrared photomodulation. Clin. exp. morphology. 2024;13(1):34–41 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.1.34-41.

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Received** 10.05.2023. **Received in revised form** 24.05.2023. **Accepted** 20.06.2023.

## Введение

Миосателлитциты являются клетками камбиального резерва скелетной мышечной ткани. Известно, что данные клетки при световой микроскопии с использованием рутинных способов окрашивания отличаются мелким темным ядром, расположенным между сарколеммой и базальной мембраной. Установлено множество ядерных факторов, экспрессируемых в миосателлитцитах на разных стадиях активации. Так, в интактной зрелой поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани клетки-спутники митотически неактивны и экспрессируют Pax-7, c-met, сиаломуцин CD34, синдекан 3, Sox8, Sox15 и другие факторы транскрипции [1, 2]. При активации сателлитные клетки начинают экспрессировать специфичные для скелетных мышц факторы транскрипции, способствующие запуску пролиферации и дифференцировки (Myf5, MyoD).

В свою очередь, уровень экспрессии MyoD напрямую зависит от действия транскрипционных коактиваторов MASTR и MRTF-A [3].

Гиперхромные клетки в мышечных волокнах являются неактивными либо недавно активированными миосателлитцитами на морфологически неидентифицируемой стадии [4]. Тем не менее после деления, в процессе дифференцировки в собственные ядра мышечных волокон, возможно обнаружение MyoD<sup>+</sup> крупных гипохромных ядер [1].

Миосателлитциты способны регулировать последующую дифференцировку [2]. Так, миосателлитцитам присущ и ассиметричный, и симметричный тип деления. При ассиметричном делении одна из клеток пойдет по пути дальнейшей дифференцировки, тогда как вторая останется в периоде G<sub>0</sub> или начнет подготовку к следующему делению. Ввиду этого ниша миосателлитцитов представляет собой саморегулирующуюся систему с многоступенчатым процессом активации специфических для миосателлитцитов экспрессируемых факторов [2, 5, 6].

Одним из наиболее универсальных лечебных воздействий, стимулирующих пролиферацию, усиливающих экспрессию генов, изменяющих проницаемость ионных каналов и воздействующих на активность ферментных систем клетки, является лазерная терапия [7–9]. В то же время эффекты инфракрасного лазера на репаративную регенерацию скелетных мышц в полной мере не изучены. В связи с этим целью исследования являлся анализ влияния длительности инфракрасного лазерного облучения на состояние клеток камбиального резерва в регенерирующей скелетной мышечной ткани.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на базе морфологической лаборатории многопрофильного центра лазерной медицины и кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Южно-Уральского государственного медицинского университета. Проведение исследования одобрено на заседании этического комитета Южно-Уральского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 21.02.2022). В эксперименте использованы 128 самцов крыс Вистар в возрасте 4–6 месяцев массой от 270 до 330 граммов. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали требованиям приказа Минздрава России № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Исходя из цели исследования, были сформированы четыре экспериментальные группы: 0 группа – интактный контроль (n=8); I группа (динамический контроль) – резаная рана *m. gastrocnemius* без дополнительного воздействия (n=40); II группа – резаная рана *m. gastrocnemius* с использованием инфракрасного лазерного облучения с экспозицией 60 секунд (n=40); III группа – резаная рана *m. gastrocnemius* с использованием инфракрасного лазерного облучения с экспозицией 180 секунд (n=40). Модель репаративной регенерации осуществлялась путем нанесения резаной травмы

под общим обезболиванием золетилом в дозе 5 мл/кг. Для доступа к икроножной мышце проводили разрез кожных покровов длиной 1 см на дорсальной поверхности задних конечностей ниже коленного сустава на 0,4–0,5 см в проекции *m. gastrocnemius*. Хирургическим скальпелем производили механическое повреждение мышцы путем выполнения перпендикулярного ходу мышцы надреза на глубину 2 мм.

Лазером воздействовали сразу после нанесения резаной раны. Фотомодуляцию осуществляли лазерным аппаратом ЛС-097 («ИРЭ-Полус», Россия) с длиной волны 970 нм, мощность 1,0 Вт, в непрерывном режиме излучения. Обработку раневой поверхности *m. gastrocnemius* проводили с расстояния от световода до ткани 5,0 мм, сканирующими движениями.

Животных выводили из опыта на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки эксперимента с помощью дислокации шейных позвонков под эфирным ингаляционным наркозом. Для дальнейшей гистотехнической обработки биоматериала фрагменты скелетной мышечной ткани *m. gastrocnemius* фиксировали 10% нейтральным забуференным формалином (рН 7,2) в течение 24 часов. После стандартной гистологической проводки осуществляли заливку скелетных мышц, после чего готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином («БиоВитрум», Россия). На полученных серийных срезах различали интактную, перифокальную и очаговую зоны. Очаговая зона отличалась наличием повреждений скелетных мышечных волокон, визуализируемых некротизированных участков, лимфогистиоцитарным инфильтратом, различающимся по клеточному составу на разных сроках эксперимента. Перифокальные участки окружали очаговую зону, отличаясь отсутствием видимых повреждений мышечных волокон. Интактные участки скелетной мышечной ткани имели ровные контуры, выраженную поперечную исчерченность, очаги соединительной ткани без инфильтрата, ядра располагались преимущественно по периферии мышечного волокна.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах, нанесенных на предметные стекла, покрытые поли-L-лизинном. Последующая демаскировка антигенов проводилась при температуре +95–98°C в течение 25 минут. Постановка иммуногистохимической реакции осуществлялась с использованием антител к MyoD (Affinity Biosciences, КНР) и набора реагентов Novolink (Leica Biosystems, Германия) в соответствии с протоколом производителя.

Гистологические препараты анализировали с помощью микроскопа DM RXA (Leica Microsystems, Германия), оснащенного цифровой видеокамерой DFC 290 (Leica Microsystems, Германия), сопряженной с программой анализа изображений ImageScore M («Системы для микроскопии и анализа» (СМА), Россия). Показатель площади гипохромных ядер рассчитывали при  $\times 1000$  (объектив  $\times 100$ ; окуляры  $\times 10$ ) с использова-

нием масляной иммерсии и функции «ручное выделение» в программе ImageScore M. Плотность расположения MyoD+ ядер рассчитывали путем мануального выделения площади мышечных волокон (в программе ImageScore M) с последующим подсчетом количества ядер, давших положительную окраску на MyoD, и дальнейшим разделением количества MyoD+ ядер на площадь мышечных волокон, содержащих в себе эти ядра. Количество измерений для каждого представленного значения было равно 40.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью лицензионных пакетов прикладных программ: Excel 2020 (Microsoft, США), PAST версии 4.12b (Hammer, 2023) и Statistica версии 12.5 (StatSoft, США). Для оценки достоверности различий использовался 4-факторный метод дисперсионного анализа ANOVA, апостериорные вычисления для сравнения показателей нескольких экспериментальных групп осуществлялись с использованием метода Тьюки. Данные представлены в виде среднего арифметического с указанием 95% доверительных интервалов. В том числе осуществлялся анализ совокупности массивов данных по срокам и зонам, а также по группам и зонам. Статистически значимыми считали различия при значении  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

В интактной *m. gastrocnemius* крысы площадь гиперхромных ядер составила 17,35 мкм<sup>2</sup> (15,94; 18,77). В группе динамического контроля достоверные различия по сравнению с интактной группой не выявлены.

При сравнении групп лазерного воздействия с динамическим контролем в 1-е сутки эксперимента в III группе животных (180 секунд) было обнаружено достоверное уменьшение площади гиперхромных ядер в интактной и перифокальной зонах мышечных волокон, во II группе (60 секунд) изменения не наблюдались (табл. 1). На 3-и сутки опыта площадь гиперхромных ядер достоверно не изменялась ни в одной из опытных групп. 7-е сутки характеризовались достоверным ростом показателя у животных III группы в очаговой и перифокальной зонах, а на 30-е сутки в этой же группе увеличивалась площадь гиперхромных ядер в зоне интактных мышц.

Для оценки тенденций влияния лазерного облучения на площадь гиперхромных ядер вне зависимости от срока эксперимента было использовано сравнение массивов данных групп. При этом обнаружено, что площадь гиперхромных ядер в группе лазерного облучения с экспозицией 180 секунд превышает показатели всех остальных групп. Так, площадь гиперхромных ядер в III группе животных составляла 16,90 мкм<sup>2</sup> (16,29; 17,50), тогда как в группе динамического контроля этот показатель был 15,91 мкм<sup>2</sup> (15,42; 16,40),  $p=0,0041$ , а во II группе животных 15,96 мкм<sup>2</sup> (15,43; 16,49),  $p=0,0072$ . Достоверные различия между показателями группы динамического контроля и II группы не обнаружены.

Таблица 1 | Table 1

Площадь гиперхромных ядер в регенерирующей *m. gastrocnemius*, среднее (–95%; +95%) |  
 The area of hyperchromic nuclei in the regenerating *m. gastrocnemius*, mean (–95%; +95%)

Группа   Group	Сутки   Day				
	1-е   Day 1	3-и   Day 3	7-е   Day 7	14-е   Day 14	30-е   Day 30
Интактная зона (и.) (мкм <sup>2</sup> )   Intact zone (i.) (μm <sup>2</sup> )					
I группа (динамический контроль)   Group I (dynamic control)	17,59 (15,66; 19,53)	13,88 (11,81; 15,95)	14,23 (12,43; 16,04)	16,64 (15,46; 17,83)	14,88 (13,66; 16,11)
II группа (лазер 60 секунд)   Group II (60-second laser)	15,56 (13,78; 17,35)	12,17 (9,32; 15,02)	16,03 (13,74; 18,31)	17,53 (16,11; 18,95)	15,95 (14,88; 17,02)
III группа (лазер 180 секунд)   Group III (180-second laser)	13,26 (11,88; 14,64)	17,22 (14,83; 19,61)	14,06 (12,31; 15,82)	14,64 (13,32; 15,96)	19,23 (17,87; 20,59)
Перифокальная зона (п.) (мкм <sup>2</sup> )   Perifocal zone (p.) (μm <sup>2</sup> )					
I группа (динамический контроль)   Group I (dynamic control)	16,22 (14,27; 18,19)	14,41 (13,77; 15,05)	13,36 (12,04; 14,68)	14,09 (12,65; 15,53)	18,69 (18,14; 19,25)
II группа (лазер 60 секунд)   Group II (60-second laser)	15,58 (14,31; 16,87)	11,25 (10,51; 12,00)	14,47 (12,81; 16,14)	15,27 (13,33; 17,22)	16,62 (15,14; 18,10)
III группа (лазер 180 секунд)   Group III (180-second laser)	13,15 (12,11; 14,20)	16,13 (14,17; 18,11)	19,82 (18,14; 21,52)	14,86 (13,71; 16,01)	19,23 (17,38; 21,09)
Очаговая зона (о.) (мкм <sup>2</sup> )   Focal zone (o.) (μm <sup>2</sup> )					
I группа (динамический контроль)   Group I (dynamic control)	16,90 (14,81; 19,00)	19,54 (16,53; 22,57)	14,26 (12,37; 16,17)	15,61 (13,89; 17,33)	18,30 (17,04; 19,57)
II группа (лазер 60 секунд)   Group II (60-second laser)	18,79 (17,22; 20,38)	19,66 (18,18; 21,15)	17,97 (15,56; 20,38)	15,48 (14,16; 16,80)	17,00 (15,19; 18,82)
III группа (лазер 180 секунд)   Group III (180-second laser)	15,42 (13,42; 17,44)	17,87 (15,24; 20,50)	21,49 (17,75; 25,22)	17,55 (16,12; 18,98)	19,49 (17,55; 21,43)
p-значение   p-value	$P_{и.(III)-и.(I)}$ – 0,0236 $P_{п.(III)-п.(I)}$ – 0,0158	$P_{и.(I)-п.(II)}$ – 0,0001 $P_{п.(III)-п.(II)}$ – 0,0001	$P_{п.(III)-и.(I)}$ – 0,0002 $P_{о.(III)-о.(I)}$ – 0,0001		$P_{и.(III)-и.(I)}$ – 0,023 $P_{и.(III)-и.(II)}$ – 0,031
Интактный контроль (мкм <sup>2</sup> )   Intact control (μm <sup>2</sup> ): 17,35 (15,94; 18,77)					

При сравнении групп лазерного воздействия между собой выявлено, что в очаговой зоне площадь гиперхромных ядер не отличалась (табл. 1). В то же время в перифокальной зоне обнаружено увеличение показателя в мышцах с экспозицией лазера 180 секунд (III группа). В интактной зоне отмечалось увеличение площади гиперхромных ядер III группы на 3-и сутки по сравнению с показателем II группы.

Следующим этапом работы являлся анализ плотности расположения MyoD+ ядер, которые выявляются в активированных миосателлитоцитах, вставших на путь дифференцировки в собственные ядра скелетного мышечного волокна (рис. 1, 2). Было обнаружено достоверное увеличение плотности расположения MyoD+ ядер при сравнении групп интактного и динамического контроля. Так, установлено увеличение плотности расположения MyoD+ ядер в очаговой области на 7-е сутки

( $p=0,0371$ ) и на 14-е сутки ( $p=0,0465$ ) по сравнению со значениями группы интактного контроля.

Полученные данные свидетельствуют об увеличении плотности расположения MyoD+ ядер на 3-и сутки во II и III группах по сравнению с группой динамического контроля (табл. 2). На 7-е сутки плотность расположения MyoD+ ядер в скелетных мышцах II группы животных была выше по сравнению с III группой ( $p=0,038$ ) (рис. 1).

При сравнении совокупности массивов данных по группам отмечалось достоверное ( $p=0,0045$ ) увеличение количества MyoD+ ядер в выборке применения лазерного облучения продолжительностью 60 секунд (1672,34 [1527,06; 1817,63]) относительно группы динамического контроля (1399,92 [1288,04; 1511,79]). Для группы лазерного воздействия 180 секунд такая разница не обнаружена.

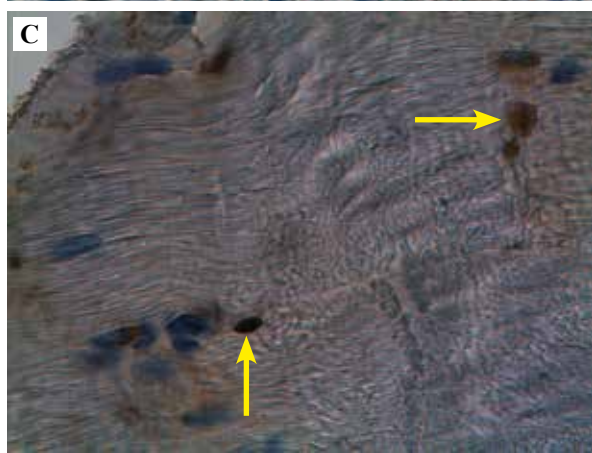
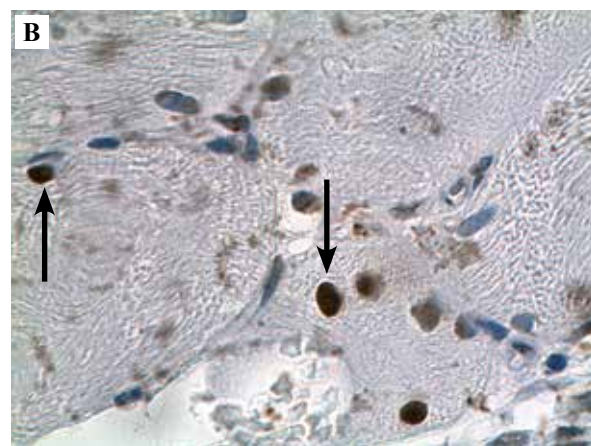
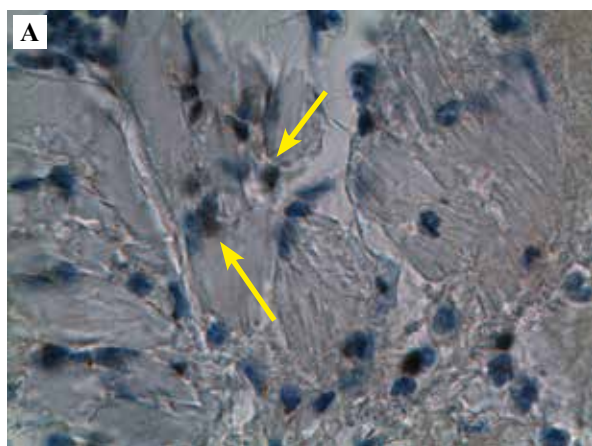


Рис. 1. Экспрессия MyoD на 1-е сутки (очаговая зона) (А), 7-е сутки (очаговая зона) (В) и 30-е сутки (очаговая зона) (С). II группа. Стрелки указывают на MyoD+ ядра. ИГХ с антителами к MyoD, гематоксилин,  $\times 1000$

Fig. 1. MyoD expression, day 1 (focal zone) (A), day 7 (focal zone) (B), and day 30 (focal zone) (C). Group II. MyoD+ nuclei (arrows). IHC with antibodies to MyoD, hematoxylin,  $\times 1000$

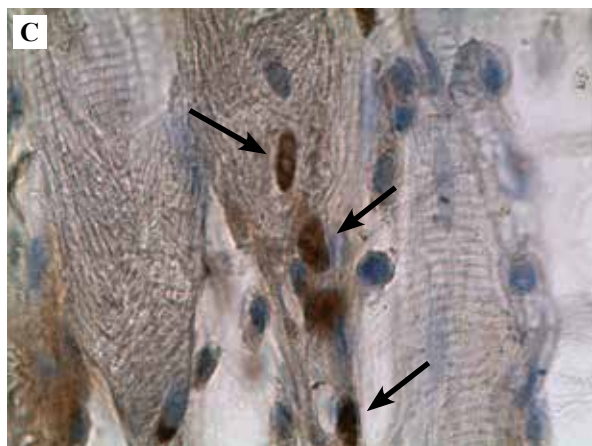


Рис. 2. Экспрессия MyoD в интактной (А), перифокальной (В) и очаговой (С) зонах регенерирующей скелетной мышечной ткани. 3-и сутки эксперимента. II группа. Стрелки указывают на MyoD+ ядра. ИГХ с антителами к MyoD, гематоксилин,  $\times 1000$

Fig. 2. MyoD expression in the intact (A), perifocal (B), and focal (C) zones in the regenerating skeletal muscle tissue. Day 3 of the experiment. Group II. MyoD+ nuclei (arrows). IHC with antibodies to MyoD, hematoxylin,  $\times 1000$



Таблица 2 | Table 2

Плотность расположения MyoD+ ядер в регенерирующей *m. gastrocnemius*, среднее (–95%; +95%) |  
The density of MyoD+ cells in the regenerating *m. gastrocnemius*, mean (–95%; +95%)

Группа   Group	Сутки   Day				
	1-е   Day 1	3-и   Day 3	7-е   Day 7	14-е   Day 14	30-е   Day 30
Интактная зона (п/мм <sup>2</sup> )   Intact zone (n/mm <sup>2</sup> )					
I группа   Group I	1063,30 (767,72; 1358,89)	939,75 (660,71; 1218,79)	1603,38 (1259,47; 1947,29)	1098,18 (701,84; 1494,52)	1347,32 (1095,40; 1599,23)
II группа   Group II	1046,22 (897,61; 1194,82)	1238,58 (924,27; 1552,89)	1874,16 (1516,93; 2231,39)	1349,75 (1148,92; 1550,57)	1544,91 (1316,77; 1773,05)
III группа   Group III	1029,95 (822,21; 1237,69)	865,64 (683,21; 1048,07)	1411,24 (1198,76; 1623,72)	1175,93 (949,48; 1402,39)	1028,04 (806,42; 1249,66)
Очаговая зона (п/мм <sup>2</sup> )   Focal zone (n/mm <sup>2</sup> )					
I группа   Group I	1480,11 (1230,61; 1729,61)	1192,03 (884,86; 1499,19)	1921,428 (1415,832; 2427,025)	1704,968 (1531,436; 1878,499)	1648,69 (1102,01; 2195,36)
II группа   Group II	1704,48 (1217,01; 2191,96)	1952,32 (1573,24; 2331,40)	2694,25 (1728,80; 3659,71)	1700,72 (1339,36; 2062,08)	1618,02 (1327,60; 1908,45)
III группа   Group III	1384,52 (1225,80; 1543,23)	1804,86 (1467,08; 2142,64)	1796,69 (1618,52; 1974,85)	1746,96 (1087,44; 2406,48)	1291,99 (1145,94; 1438,03)
p-значение   p-value		$P_{o(II)-o(I)} - 0,0267$ $P_{o(III)-o(I)} - 0,0436$	$P_{o(II)-o(III)} - 0,0387$		
Интактный контроль (п/мм <sup>2</sup> )   Intact control (n/mm <sup>2</sup> ): 1241,27 (1011,09; 1471,45)					

## Обсуждение

Гиперхромные ядра скелетных мышечных волокон являются неактивными или недавно активированными миосателлитоцитами, дифференцирующимися в светлые гипохромные собственные ядра скелетных мышечных волокон [1, 2, 7]. Однако при оценке миосателлитоцитов в регенерирующей скелетной мышце по степени конденсации хроматина упускаются дифференцирующиеся собственные ядра, еще экспрессирующие факторы, присущие миосателлитоцитам, но уже ими не являющиеся и имеющие светлое ядро [1, 2, 6]. Увеличение площади гиперхромных ядер может свидетельствовать о направлении их активности в сторону дифференцировки. В то же время увеличение количества MyoD+ ядер (активированных миосателлитоцитов) указывает на активную пролиферацию и дифференцировку миосателлитоцитов [2, 6, 10]. При этом вновь вошедшие в G<sub>0</sub> и прекратившие дифференцировку миосателлитоциты не экспрессируют больше MyoD+ [1]. Таким образом, увеличение плотности распределения MyoD+ ядер на 3-и сутки после лазерного воздействия предшествует последующему увеличению

площади гиперхромных ядер на 7-е сутки, поскольку увеличение количества активированных клеток может приводить к пополнению относительного дефицита ниши миосателлитоцитов при регенерации и увеличению количества дифференцирующихся ядер, что необходимо для дальнейшего восстановления скелетных мышц. Выраженным влиянием на увеличение количества активированных миосателлитоцитов обладала короткая экспозиция лазера (60 секунд).

Эксперимент показал, что после лазерного воздействия с экспозицией 180 секунд на рану скелетной мышцы площадь гиперхромных ядер миосателлитоцитов может меняться разнонаправленно. Первоначальное уменьшение площади ядер сменяется на 7-е сутки ее увеличением. Удлинение лазерного воздействия с 60 до 180 секунд приводит к более выраженному увеличению площади гиперхромных ядер (при сравнении массивов данных без учета срока опыта) [11, 12]. Полученные нами результаты свидетельствуют о дозозависимом влиянии инфракрасной фотобиомодуляции на показатель площади ядер, что согласуется с данными литературы [13, 14]. Выявленное увеличение площади

гиперхромных ядер на 7-е сутки говорит о длительном стимулирующем влиянии однократного лазерного облучения [15–17].

Временной отрезок с 1-х суток и до 7-х, на протяжении которого в разных зонах поврежденной мышцы происходят значимые изменения площади гиперхромных ядер, отражает не только ответные реакции миосателлитоцитов (деление, в том числе асимметричное, дифференцировку), но и процессы, происходящие в поврежденной мышце в целом. Так, в исследовании T. Compton et al. установлено, что лазерное воздействие с длиной волны 670 нм и экспозицией 5 минут приводило к увеличению количества сосудов, уменьшению отека и инфильтрата в регенерирующей скелетной мышечной ткани на 7-е сутки [14]. Подобный результат был получен при исследовании физиологической регенерации скелетной мышечной ткани в ходе тренировочного процесса, при приеме ВСАА (branched-chain amino acids/аминокислоты с разветвленной боковой цепью) и лазерном облучении (980 нм, 60 секунд) [6] и влияния фотомодуляции на площадь ядер и количество миосателлитов в регенерирующей мышце у животных разных возрастных групп [7].

Обращает на себя внимание, что площадь гиперхромных ядер на 30-е сутки в группе фотомодуляции с экспозицией 180 секунд практически не отличается в очаговой, перифокальной и интактной зонах скелетной мышечной ткани. Эти данные свидетельствуют о расширении области регенеративных процессов и могут указывать на более полноценную репарацию скелетных мышечных волокон [18, 19]. В то же время у животных контрольной группы площадь гиперхромных ядер в перифокальной и очаговой зонах достоверно больше и не соответствует значению показателя в интактной зоне, что может указывать на более хронологически ранний этап репаративного процесса, для которого характерно выраженное увеличение в зоне очаговых изменений, и меньшую степень его завершенности [19, 20].

## Заключение

После применения инфракрасного лазера с экспозицией 60 секунд преимущественно повышается плотность расположения MyoD<sup>+</sup> ядер, а более длительное лазерное воздействие (180 секунд) влияет на прирост площади гиперхромных ядер мышечной ткани.

Так как инфракрасная фотобиомодуляция способствует увеличению количества и дифференцировке активированных миосателлитоцитов, это приводит к ускоренному восстановлению скелетных мышц на модели резаной раны.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Р.В. Тахавиев, Е.С. Головнева.

Сбор и обработка материала – Р.В. Тахавиев.

Написание текста – Р.В. Тахавиев.

Редактирование – Г.В. Брюхин, Е.С. Головнева.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – R.V. Takhaviev, E.S. Golovneva.

Collected the data and performed the analysis – R.V. Takhaviev.

Wrote the paper – R.V. Takhaviev.

Edited the manuscript – G.V. Bryukhin, E.S. Golovneva.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## Литература/References

1. Jankowski M, Mozdziak P, Petite J, Kulus M, Kempisty B. Avian satellite cell plasticity. *Animals (Basel)*. 2020;10(8):1322. DOI: 10.3390/ani10081322.
2. Pang KT, Loo LSW, Chia S, Ong FYT, Yu H, Walsh I. Insight into muscle stem cell regeneration and mechanobiology. *Stem Cell Res Ther*. 2023;14(1):129–40. DOI: 10.1186/s13287-023-03363-y.
3. Song R, Zhao S, Xu Y, Hu J, Ke S, Li F et al. MRTF-A regulates myoblast commitment to differentiation by targeting PAX7 during muscle regeneration. *J Cell Mol Med*. 2021;25(18):8645–61. DOI: 10.1111/jcmm.16820.
4. Rajasekaran NS, Shelar SB, Jones DP, Hoidal JR. Reductive stress impairs myogenic differentiation. *Redox Biol*. 2020;34:101492. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101492.
5. Wiedmer P, Jung T, Castro JP, Pomatto LCD, Sun PY, Davies KJA et al. Sarcopenia – molecular mechanisms and open questions. *Ageing Res Rev*. 2021;65:101200. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101200.
6. Галлямутдинов Р.В., Головнева Е.С., Ревель-Муроз Ж.А., Еловских И.В. Инфракрасное лазерное воздействие в комбинации с приемом аминокислот с разветвленной боковой цепью стимулирует физиологическую адаптацию скелетных мышц. *Лазерная медицина*. 2021;25(3):40–46. DOI: 10.37895/2071-8004-2021-25-3-40-46.
7. Галлямутдинов Р.В., Головнева Е.С., Брюхин Г.В. Влияние инфракрасного лазерного излучения и приема аминокислот на адаптацию сосудистого русла межмышечной соединительной ткани к физическим нагрузкам в эксперименте. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2022;1(19):158–161. DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-158-161.
8. Gallyamutdinov RV, Golovneva ES, Bryukhin GV. Effect of infrared laser radiation and amino acid intake on the vascular bed adaptation of the intermuscular connective tissue to physical activity. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2022;1(19):158–161 (In Russ.). DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-158-161.
9. Andreo L, Ribeiro BG, Alves AN, Martinelli ASA, Soldera CB, Horliana ACRT et al. Effects of photobiomodulation with low-level laser therapy on muscle repair following a peripheral nerve injury in Wistar rats. *Photochem Photobiol*. 2020;96(5):1124–32. DOI: 10.1111/php.13255.

9. *Vieira WF, Kenzo-Kagawa B, Alvares LE, Cogo JC, Baranauskas V, da Cruz-Höfling MA.* Exploring the ability of low-level laser irradiation to reduce myonecrosis and increase Myogenin transcription after Bothrops jararacussu envenomation. *Photochem Photobiol Sci.* 2021;20(4):571–83. DOI: 10.1007/s43630-021-00041-x.
10. *Minai L, Yelin D.* Plasmonic fusion between fibroblasts and skeletal muscle cells for skeletal muscle regeneration. *Biomed Opt Express.* 2022;13(2):608–19. DOI: 10.1364/BOE.445290.
11. *da Silva EM, Mesquita-Ferrari RA, Rodrigues MFSD, Magalhães EMR, Bussadori SK, De Brito A et al.* The effects of photobiomodulation on inflammatory infiltrate during muscle repair in advanced-age rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2020;75(3):437–41. DOI: 10.1093/gerona/glz076.
12. *Gonzalez AC, Santos ET, Freire TFC, Sá MF, Andrade ZA, Medrado ARAP.* Participation of the immune system and hedgehog signaling in neoangiogenesis under laser photobiomodulation. *J Lasers Med Sci.* 2019;10(4):310–6. DOI: 10.15171/jlms.2019.50.
13. *Cronshaw M, Parker S, Anagnostaki E, Mylona V, Lynch E, Grootveld M.* Photobiomodulation dose parameters in dentistry: a systematic review and meta-analysis. *Dent J (Basel).* 2020;8(4):114. DOI: 10.3390/dj8040114.
14. *Compton T, Poellinger N, Struve J, Krolkowski JG, Ninomiya JT, Weihrauch D.* Non-thermal infrared light treatment of ischemia/reperfusion injury and subsequent analysis of macrophage differentiation. *J Vis Exp.* 2021;(178). DOI: 10.3791/62908.
15. *Leyane TS, Jere SW, Houreld NN.* Cellular signalling and photobiomodulation in chronic wound repair. *Int J Mol Sci.* 2021;22(20):11223. DOI: 10.3390/ijms222011223.
16. *Reis CHB, Buchaim DV, Ortiz AC, Fideles SOM, Dias JA, Miglino MA et al.* Application of fibrin associated with photobiomodulation as a promising strategy to improve regeneration in tissue engineering: a systematic review. *Polymers (Basel).* 2022;14(15):3150. DOI: 10.3390/polym14153150.
17. *Pinto H, Goñi Oliver P, Sánchez-Vizcaino Mengual E.* The effect of photobiomodulation on human mesenchymal cells: a literature review. *Aesthetic Plast Surg.* 2021;45(4):1826–42. DOI: 10.1007/s00266-021-02173-y.
18. *Della Santa GML, Ferreira MC, Machado TPG, Oliveira MX, Santos AP.* Effects of photobiomodulation therapy (LED 630 nm) on muscle and nerve histomorphometry after axonotmesis. *Photochem Photobiol.* 2021;97(5):1116–22. DOI: 10.1111/php.13415.
19. *Fukada SI, Akimoto T, Sotiropoulos A.* Role of damage and management in muscle hypertrophy: different behaviors of muscle stem cells in regeneration and hypertrophy. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2020;1867(9):118742. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2020.118742.
20. *Коняева А.Д., Варакута Е.Ю., Лейман А.Е., Больбасов Е.Н., Станкевич К.С.* Изменения клеточного состава воспалительного инфильтрата и соединительной ткани слизистой оболочки полости рта крыс при регенерации раны с использованием защитного пьезоэлектрического покрытия. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(1):50–61. DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.50-61.
- Koniaeva AD, Varakuta EY, Leiman AE, Bolbasov EN, Stankevich KS.* Changes in the cellular composition of the inflammatory infiltrate and connective tissue of the oral mucosa in rats during wound healing using a protective piezoelectric coating. *Clinical and experimental morphology.* 2022;11(1):50–61 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.1.50-61.

### Информация об авторах

Ростислав Винерович Тахавиев – ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Южно-Уральского государственного медицинского университета.

Геннадий Васильевич Брюхин – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Южно-Уральского государственного медицинского университета.

Елена Станиславовна Головнева – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нормальной физиологии Южно-Уральского государственного медицинского университета.

### Author information

Rostislav V. Takhaviev – Assistant, Histology, Embryology and Cytology Department, South Ural State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-8994-570X>

Gennady V. Bryukhin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Histology, Embryology and Cytology Department, South Ural State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-3898-766X>

Elena S. Golovneva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor, Normal Physiology Department, South Ural State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-6343-7563>