

DOI: 10.26693/jmbs02.04.013

УДК 612.017.1:535-2-026.613.63:535-2-026.613.114:616-002.3

Дубовик О. С., Мішина М. М.

ВПЛИВ СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ СИНЬОГО ТА ЧЕРВОНОГО СПЕКТРІВ НА ІМУНОЦИТОКІНОВИЙ СТАН ПРИ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Харківський національний медичний університет,

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова

mishina1969mmm@gmail.com

Вивчено особливості імунного та цитокінового стану під впливом дії світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів та комплексного застосування з антимікробними препаратами при гнійно-запальних процесах. Встановлено, що при використанні комплексного застосування антимікробних препаратів та світлодіодного випромінювання на осередок запалення після обробки антисептичним препаратом, імунний стан організму характеризується значним зниженням ступеня виразності запальних процесів та призводить до відновлення характеру як місцевих так і загальних імунних реакцій з адекватним співвідношенням основних його ланок.

Ключові слова: гнійно-запальний процес, імуноцитокіновий стан, світлодіодне випромінювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлену роботу виконано у відповідності з плановою тематикою науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова ХНМУ «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань», № держ. реєстрації: 0114U003390.

Вступ. Незважаючи на прогрес у розробці та удосконаленні існуючих методів лікування гнійно-запальних процесів (ГЗП), ця проблема залишається пріоритетною в сучасній біології та медицині. Спроба зробити акцент виключно на антимікробний компонент у комплексній програмі лікування цієї патології є недостатньо ефективною [1, 2]

На сьогодні продовжується пошук нових, ефективних та водночас простих, ергономічних методів місцевого лікування ран [3]. Одним з перспективних напрямків вирішення цієї проблеми є антимікробна терапія із застосуванням некогерентного світлодіодного випромінювання. До переваг фототерапії можна віднести: природність та безпечність

фізичного фактору, можливість одночасного поєднання фототерапії з лікарськими препаратами та іншими фізичними факторами, вибірковість та цілеспрямованість, фотобіологічну дію на клітини і тканини організму, відсутність безпосереднього контакту випромінювача з поверхнею та додаткового нагріву тканин, що дає можливість застосувати цей фактор в гостру фазу запалення [4].

Важливо відзначити, що біологічні ефекти фотодинамічного впливу залежать від таких параметрів, особливо довжини хвилі і дози, що підкреслює важливість визначення відповідного лікування.

Центральну роль в елімінації збудників гнійно-запальних процесів відіграє Т-клітинна ланка імунітету, а основними молекулами, що координують дію імунних клітин, виступають цитокіни, які й визначають ефективність імунної відповіді та перебіг запального процесу в організмі [5]. Нормально функціонуюча імунна система перешкоджає безконтрольному виділенню медіаторів запалення і забезпечує адекватну реакцію макроорганізму на інвазію мікроорганізму.

Мета дослідження присвячена комплексному вивченню особливостей імунного та цитокінового стану під впливом дії світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів та комплексного застосування із антимікробними препаратами при гнійно-запальних процесах.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження виконані на 64 мишах інбредної лінії BALB/cJLacSto відповідно до національних «Загальних етичних принципів дослідів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і інших наукових цілей» [6]. У роботі було використано мінімально допустиму для статистичної обробки і отримання достовірних результатів загальноприйнятну кількість тварин у групі, а також

мінімально достатнє для досягнення мети й рішення задач дослідження кількість експериментальних груп [7]: 1 група - інтактні миші (негативний контроль); 2 група - інфіковані миші без лікування (позитивний контроль); 3 група інфіковані миші з проведенням терапії: обробка осередку запалення антисептичним препаратом з наступним опроміненням синім світлодіодом; 4 група - інфіковані миші з проведенням терапії: обробка осередку запалення антисептичним препаратом з наступним опроміненням червоним світлодіодом; 5 - інфіковані миші з проведенням терапії новапімом; 6 - інфіковані миші з проведенням терапії новапімом та обробкою осередку запалення антисептичним препаратом з наступним опроміненням синім світлодіодом; 7 - інфіковані миші з проведенням терапії новапімом та обробкою осередку запалення антисептичним препаратом з наступним опроміненням червоним світлодіодом; 8 - інфіковані миші з проведенням терапії новапімом та обробкою осередку запалення антисептичним препаратом з наступним опроміненням послідовно синім та червоним світлодіодами [8]. Розрахунок доз препаратів проводиться за формулою Риболовлева [9].

Імуноморфологічне дослідження було проведено на парафінових зрізах непрямим методом Кунса за методикою Brozman. Імунні клітини диференціювалися за допомогою моноклональних антитіл фірми Serotec до різних типів клітин. Відносні об'єми загальних клонів імунних клітин були визначені за допомогою сітки Г.Г. Автанділова в люмінесцентному мікроскопі. Кількість клітин-продуцентів цитокінів підраховано у полі зору x400 [10]. Для статистичної обробки результатів використано програму «Statistica» для персонального комп'ютера [11].

Результати дослідження та їх обговорення. Інтегральні показники фагоцитозу (табл. 1) у тварин інфікованої групи (2 групи – позитивний контроль) дорівнюють: фагоцитарна кількість нейтрофі-

лів (ФЧ) – $1,5 \pm 0,2$ та їх поглинальна здатність (ФІ) - $41,4 \pm 2,3\%$ були нижче контрольних значень ($3,8 \pm 0,2$ й $80,1 \pm 1,3\%$ відповідно).

Аналізуючи динаміку цих показників під впливом світлодіодного випромінювання синього та червоного спектрів *per se* й комплексно з новапімом встановлено, що в групах піддослідних тварин, яким осередок запалення піддавали обробці антисептичним препаратом та опроміненню синім світлодіодом інтегральні показники фагоцитозу практично не відрізнялися від групи тварин позитивного контролю.

При визначенні впливу червоного світлодіоду на осередок запалення було встановлено, що показники дорівнювали такі групи інтактних тварин.

При вивченні функціональної активності нейтрофілів встановлено, що нейтрофіли під впливом світлодіоду червоного спектру активно фагоцитують частинки латексу, причому у нейтрофілів групи тварин з комплексною терапією ця функція проявляється сильніше, ніж у гранулоцитів тварин під впливом тільки опромінення.

Дослідження останніх років показали, що навіть після загибелі нейтрофіли можуть виконувати атимікробну функцію за рахунок утворення нейтрофільних екстрацелюлярних пасток (NETs). У відповідь на мікробні і немікробні агенти нейтрофіли активно формують у позаклітинному просторі сіткоподібні структури, що складаються з нуклеїнових кислот і ферментів [12]. Порівнюючи фагоцитарну активність незмінених нейтрофілів та ефективність уловлювання бактерій в нейтрофільних пастках було встановлено, що інтенсивність фагоцитозу під впливом світлодіодного випромінювання червоного спектру дорівнює: латексу – $7,9 \pm 0,08$ од.ощ., *E.coli* – $3,4 \pm 0,07$ од.ощ.; *S.aureus* – $9,2 \pm 0,06$ од.ощ., що у 1,6 – 2 разів нижче вмісту антигенів в NETs: $12,4 \pm 0,08$ од.ощ.; $7,1 \pm 0,04$ од.ощ. та $14,8 \pm 0,09$ од.ощ. відповідно.

Таблиця 1 – Стан фагоцитозу при застосуванні світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів

Групи тварин		Показник	
		Фагоцитарний індекс, %	Фагоцитарне число, ум.од.
контр	1 група (інтактні)	$80,1 \pm 1,3$	$3,8 \pm 0,2$
	2 група (інфіковані)	$41,4 \pm 1,4$	$1,5 \pm 0,2$
дослідні групи	3 група (синій спектр)	$43,8 \pm 1,3^*$	$1,8 \pm 0,1^*$
	4 група (червоний спектр)	$68,3 \pm 0,7^{*\#}$	$2,0 \pm 0,2^*$
	5 група (новапім)	$53,6 \pm 2,6^{*\#}$	$2,3 \pm 0,1^*$
	6 група (новапім+синій)	$66,3 \pm 1,5^{*\#}$	$6,5 \pm 0,4^{*\#}$
	7 група (новапім+червоний)	$80,8 \pm 1,9^{\#}$	$6,2 \pm 0,6^{\#}$
	8 група (новапім+синій+червоний)	$81,8 \pm 2,1^{\#}$	$5,9 \pm 0,4^{*\#}$

Примітки: * $p < 0,001$ – порівняно з інтактними тваринами; $^{\#} p < 0,001$ - порівняно з інфікованими тваринами.

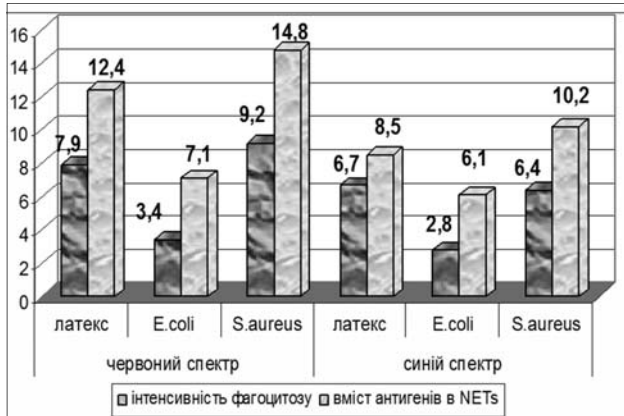


Рис. 1. Кількість фагоцитованих частинок латексу, *E.coli* й *S.aureus*, що виявляються в нейтрофільних екстрацелюлярних пастках (ум.од.)

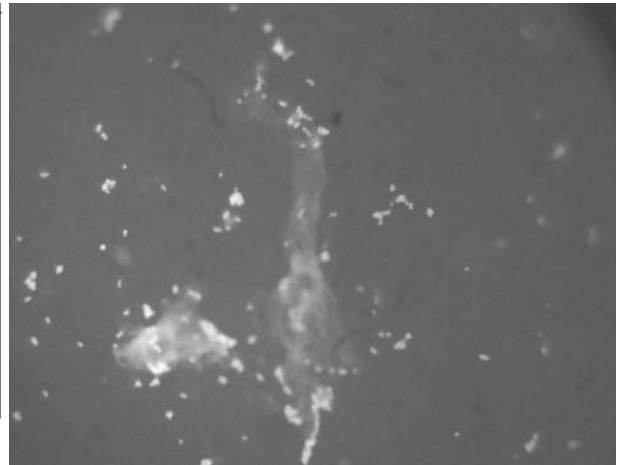


Рис. 2. Нейтрофільні екстрацелюлярні пастки в осередку запалення

Аналізуючи вплив світлодіодного випромінювання синього спектру встановлено, що інтенсивність фагоцитозу та вміст антигенів в NETs, знижено майже у 2 рази порівняно з дією червоного спектру (частинки латексу – $6,7 \pm 0,09$ од.ощ.; *E.coli* – $2,8 \pm 0,07$ од.ощ.; *S.aureus* – $6,4 \pm 0,05$ од.ощ.), але зафіксовано, що NETs затримують більше антигенів, як мікробного, так і немікробного походження: частинок латексу $8,5 \pm 0,04$ од.ощ.; *E.coli* – $6,1 \pm 0,07$ од.ощ. та *S.aureus* – $10,2 \pm 0,08$ од.ощ. (рис. 1).

При люмінесцентному дослідженні препаратів, зафарбованих акрідиним помаранчевим встановлено, що після взаємодії з антигенами *in vitro* нейтрофіли утворюють позаклітинні сіткоподібні структури, які добре візуалізуються (рис. 2).

Таким чином, бактеріальні агенти стимулюють утворення екстрацелюлярних пасток, при цьому нейтрофіл втрачає життєздатність, але продовжує виконувати захисну функцію.

В результаті вивчення загального стану імунітету організму піддослідних груп тварин встановлено, що в групі інфікованих тварин характерно достовірне зниження кількості лейкоцитів й лімфоцитів у периферичній крові. Субпопуляційний аналіз лімфоцитів показав, що лімфопенія супроводжувалась вираженим зниженням вмісту окремих субпопуляцій цих клітин. Так, була достовірно знижена кількість всіх вивчених субпопуляцій Т-лімфоцитів з маркерами диференціації CD3⁺, CD4⁺, CD11⁺, CD18⁺. Співвідношення CD4⁺/CD8⁺ також було достовірно нижче, ніж у інтактних тварин.

Отже, проведені імунологічні дослідження дозволили встановити, порівняно з групою контролю (інтактні), наступні показники: змінюються параметри клітинного імунітету (рис. 3): статистично значними зміни відмічаються за кількістю CD3⁺ – $33,8 \pm 1,0\%$; CD4⁺ – $15,2 \pm 1,2\%$; CD11⁺ – $16,7 \pm 0,8\%$ та CD18⁺ – $12,8 \pm 0,4\%$. Поряд з пригніченням

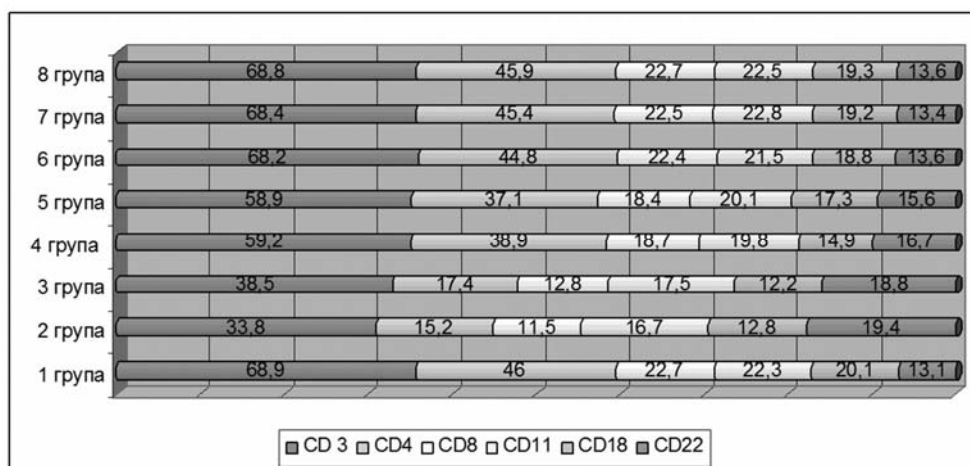


Рис. 3. Інтегральні показники субпопуляцій лімфоцитів

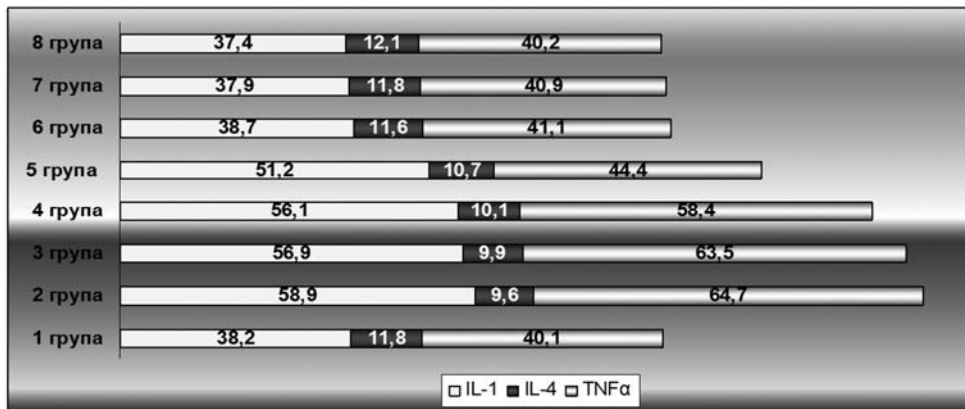


Рис. 4. Цитокиновий баланс сироватки крові в контрольних і дослідних групах тварин з комплексною терапією із застосуванням синього й червоного світлодіодів

T-система відзначається підвищення кількості В-лімфоцитів CD22⁺, що є ключовими рецепторами, які модулюють проходження сигналу під час антигенної стимуляції. Аналізуючи субпопуляційний склад лімфоцитів можна відмітити стан кілерної ланки: зниження кількості CD8⁺.

Аналізуючи вплив комплексної терапії із застосуванням світлодіодного випромінювання слід зазначити, що в усіх групах зареєстровано відновлення клітинної ланки імунітету, найкращі показники фіксувалися у групах з опроміненням осередку запалення червоним світлодіодом.

Провідна роль у патогенезі ГЗП належить медіаторам запалення, які утворюються в організмі у відповідь на фактори агресії, що продукують мікроорганізми. При визначенні цитокинового статусу встановлено, що у інфікованих тварин зафіксовано достовірно підвищення концентрацій IL-1β, як в сироватці крові (рис. 4), так й у тканинах (рис. 5), і TNF-α (p<0,001) порівняно з контрольною групою, а рівень протизапального інтерлейкіну IL-4 був дос-

товірно знижений (p<0,05). Середні рівні прозапальних цитокинів достовірно перевищували нормальні показники, а протизапальних були значно знижені порівняно з контрольною групою, тобто спостерігався дисбаланс цитокинового статусу. Активність TNF-α і IL-1β у сироватці крові значно відрізнялася від аналогічних показників як інтактних тварин, так й тварин дослідних груп. Найбільш високий рівень IL-1β був виявлений в тканинах тварин 3-ї дослідної групи, осередок запалення яких опромінювали синім світлодіодом. Різниця його вмісту, порівняно з контрольною 1-ю групою, була достовірною в групах, де проводилася комплексна терапія із застосуванням новапіму та червоного світлодіоду та новапіму, червоного й синього світлодіоду. Щодо сучасних уявлень, TNF-α - ключовий медіатор формування та прогресування запальних уражень тканин, а підвищення його системної продукції є однією з важливих детермінант дестабілізації клітин. Підвищення рівня TNF-α, більш за все, пов'язано з посиленням експресії цього цитокіну патогенами.

Системна цитокінемія, що обумовлена патогенними механізмами виникнення ГЗП, викликає посилення експресії цитокинів клітинами-продуцентами. Аналіз цитокинового профілю, зокрема співвідношення протизапальних і запальних цитокинів, значною мірою відображає гострофазовий характер запального процесу.

Серед клітинних елементів вмісту осередку запалення зменшується кількість клітин, що експресують рецептори до IL-1β, що пов'язано очевидно з альтеративними змінами і неможливістю поповнення цієї клітинної популяції внаслідок депресивного стану клітинної ланки імунітету.

Кількість цих клітин порівняно з контролем прогресивно зменшується вже з початку експерименту і до його завершення. Порівняно з 3 групою (дія

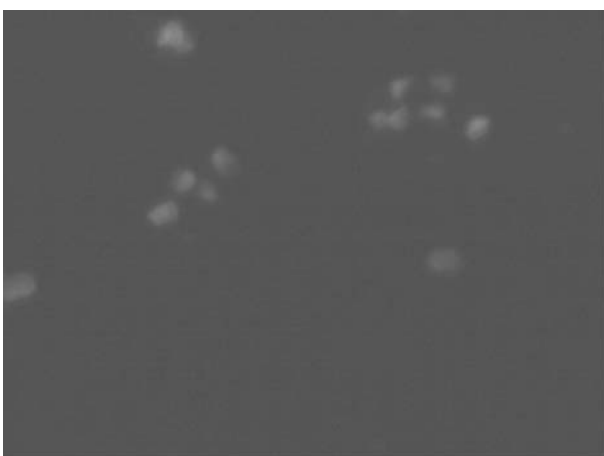


Рис. 5. Клітини-продуценти IL-1β у вогнищі запалення. 2 група. Прямий метод Кунса з МКА до IL-1β, x200

синього світла) кількість клітин-продуцентів IL-1 β на всіх стадіях експерименту 4 групи тварин значно вище, що обумовлено активацією імунних реакцій з проліферацією клітин-продуцентів цитокінів.

В осередку запалення 5-ї дослідної групи спостерігаються нечисленні макрофагально-лімфоцитарні елементи. Серед цих клітин зустрічаються клітини-продуценти IL-1 β , порівняно з контролем кількість цих клітин дещо знижена. У складі клітинної імунної реакції в тканинах 6-ї дослідної групи тварин виявляється поступове зменшення вмісту клітин-продуцентів IL-1 β . Отже, виявляється прогресивне й більш виражене, ніж у 3 групі, зменшення вмісту клітин-продуцентів IL-1 β на всіх стадіях експерименту із застосуванням синього світлодіоду.

Проведені дослідження вмісту осередку запалення дозволили встановити той факт, що серед клітин запального інфільтрату зростає популяція клітин-продуцентів прозапального цитокіну - IL-1 β , тоді як при дії синього світла кількість цих клітин знижувалась.

Таким чином, прозапальна реакція наростає при дії червоного світла, а комплексне застосування синього й червоного світлодіодів з новапімом купірують прозапальну реакцію й знімають антигенне навантаження.

При ГЗП виявлено достовірне збільшення титру ЦІК в основних групах та групі позитивного контролю. Ці показники вказують на неповноцінність клітин, що фагоцитують на фоні тривалої персистенції антигену в організмі, що підтверджується активацією цитокінового каскаду. Паралельно з високим вмістом ЦІК відмічалось зниження комплементарної активності, що може бути пов'язано з факторами агресії патогенів (табл. 2).

При вивченні гуморальної імунної відповіді виявлені статистично значущі зміни, які характеризувалися збільшеними критеріями абсолютного числа В-лімфоцитів з фенотипом CD22⁺. Аналіз рівнів імуноглобулінів дозволив встановити, що показники сироваткового IgM та IgG були достовірно підвищені. Встановлений дефіцит показника активності системи комплементу (СН50). Достовірно показано участь СН50 в механізмах елімінації ЦІК, що перешкоджає надмірному накопиченню імунних комплексів і, відповідно, пошкодженню органів і тканин.

Таблиця 2 — Динаміка імунологічних показників у тварин дослідних й контрольних груп

Групи тварин		Показник			
		ЦІК, од	Ig G г/л	IgM г/л	СН 50
контр	1 група	10,1 \pm 0,1	12,8 \pm 1,1	0,6 \pm 0,01	42,9 \pm 1,01
	2 група	23,2 \pm 0,7	13,3 \pm 1,8	3,8 \pm 0,3	17,2 \pm 0,5
дослідні групи	3 група	22,8 \pm 0,4*	13,8 \pm 0,9	3,6 \pm 0,2*	18,2 \pm 0,6*
	4 група	19,7 \pm 0,7*	15,6 \pm 0,8*#	3,1 \pm 0,3*	18,8 \pm 0,5*
	5 група	15,6 \pm 0,7*	14,7 \pm 0,6	2,2 \pm 0,4*	26,1 \pm 0,6*
	6 група	12,2 \pm 0,4#	14,2 \pm 0,8	0,9 \pm 0,06#	41,5 \pm 1,2#
	7 група	11,3 \pm 0,2#	15,4 \pm 0,6*#	0,8 \pm 0,02#	41,9 \pm 1,8#
	8 група	11,7 \pm 0,4#	14,9 \pm 0,7*#	0,7 \pm 0,03#	41,8 \pm 1,6#

Примітки: * $p < 0,001$ – порівняно з інтактними тваринами; # $p < 0,001$ - порівняно з інфікованими тваринами.

Тому даний дефект імунної відповіді можна розцінити як результат, з одного боку, порушення секретуючої функції макрофагів, що виробляють СН50, і, з іншого боку, надмірного споживання компонента при підвищеній продукції імуноглобулінів (перш за все IgG), а також при утворенні ЦІК.

Відповідно, не викликає сумніву, що пригнічення фагоцитарної ланки і дисбаланс рівня імуноглобулінів у сироватці впливають на характер виявлених порушень системи комплементу, але вирішальне значення надає активація антитілоутворення, зокрема, імуноглобулінів класу G. Здатність В-лімфоцитів до переключення синтезу класів антитіл обумовлена міжклітинною взаємодією за участю ряду цитокінів. Цитотоксична дія патогенів на лімфоцити, що призводить до лімфопенії, може свідчити про пригнічення та функціональну неповноцінність клітинної імунної відповіді в цілому. Таким чином, застосування комбінованої терапії виявилася найбільш раціональною.

Висновок. Таким чином, при використанні комплексного застосування антимікробних препаратів та світлодіодного випромінювання на осередок запалення після обробки антисептичним препаратом, імунний стан організму характеризується значним зниженням ступеня виразності запальних процесів та призводить до відновлення характеру як місцевих так і загальних імунних реакцій з адекватним співвідношенням основних його ланок.

Перспективи подальших досліджень в даному напрямку є визначення особливостей морфологічного стану при генералізованому гнійно-запальному процесі та корекція схем комплексної протимікробної та імуномодельючої терапії.

References

1. Burkovskiy MI, Chornopishchuk RM, Goncharenko OV, Skalskiy SS, Arzhenkova KB. Zmini tsitologichnoi kartini ranovogo vmistu na tli mistsevogo zastosuvannya kombinatsiyi preparativ Liasten ta Levomekol u khvorikh z gnijnimi ranami. *Ukrainskiy zhurnal maloinvazivnoi ta endoskopichnoi khirurgiyi*. 2016; 20 (1): 27-31. [Ukrainian].

2. Vinnik YuS, Markelova NM, Tyuryumin VS. Sovremennyye metody lecheniya gnoynykh ran. *Sibirskiy meditsinskiy obozrevatel*. 2013; 1: 18-24. [Russian].
3. Shaprinitskiy VO, Skalskiy SS, Palamarchuk SV, Shaprinitskiy YeV. Suchasni pidkhodi do likuvannya gniynikh ran. Nevirisheni problemi. *Shpitalna khirurgiya*. 2015; 3: 70-3. [Ukrainian].
4. Batrakov AV, Kiryanova VV, Vasilev AV. *Primenenie svetodiodnogo izlucheniya (470nm) v kompleksnom lechenii bolnykh furunkulami litsa*. Ucheb. posobie. SPb: Chelovek, 2011. 32s. [Russian].
5. Klimentko NA, Perin VA. Rol opioidnykh k-retseptorov v reaktsii tuchnykh kletok ochaga vospaleniya. *Ekspierimentalna i klinichna meditsina*. 2010; 4: 10-3. [Russian].
6. Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Huchon G, Ieven M, Ortqviste A, Schaberg T, Torres A, van der Heijden G, Verheij TJM. Guidelines for management of adult community-acquired lower respiratory tract infections. *European Respiratory Journal*. 2005; 26: 1138–80. DOI: 10.1183/09031936.05.00055705.
7. Pershin GN. *Metody eksperimentalnoy khimioterapii*. M: Meditsina, 1971. 539 s. [Russian].
8. Korobov AM, Korobov VA, Lesnaya TA. *Fototerapevticheskie apparaty Korobova serii «Barva*. Kharkov: IPP «Kontrast», 2008. 176 s. [Russian].
9. Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dozirovanie veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstantam biologicheskoy aktivnosti. *Trudy nauch- prakt konf «Doklady AN SSSR»*. Moskva, 1979; 247 (6): 1513-6. [Russian].
10. Avtandilov GG. *Osnovy patologoanatomicheskoy praktiki*. Izd 2-e. M: RMAPO, 1998. 543 s, [1] s: il. [Russian].
11. Rebrova OYu. *Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA*. Moskva: MediaSfera, 2003. 312 s. [Russian].
12. Dolgushin II, Andreeva YuS, Savochkina AYU. *Neytrofilnye vnekletochnye lovushki i metody otsenki funktsionalnogo statusa neytrofilov*. Monografiya. Moskva: Izdatelstvo RAMN, 2009. 208 s. [Russian].

УДК 612.017.1:535-2-026.613.63:535-2-026.613.114:616-002.3

ВЛИЯНИЕ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СИНЕГО И КРАСНОГО СПЕКТРОВ НА ИММУНОЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Дубовик Е. С., Мишина М. М.

Резюме. Изучены особенности иммунного и цитокинового статуса под воздействием светодиодного излучения синего и красного спектров и комплексного применения с антимикробными препаратами при гнойно-воспалительных процессах. Установлено, что при использовании комплексного применения антимикробных препаратов и светодиодного излучения на очаг воспаления после обработки антисептическим препаратом, иммунное состояние организма характеризуется значительным снижением степени выраженности воспалительных процессов и приводит к восстановлению характера, как местных, так и общих иммунных реакций с адекватным соотношением основных его звеньев.

Ключевые слова: гнойно-воспалительный процесс, иммуноцитокинный статус, светодиодное излучение.

UDC 612.017.1:535-2-026.613.63:535-2-026.613.114:616-002.3

Effect of Blue and Red Spectrum Led Irradiation on Immunocytokine State at Purulent-Inflammatory Processes (Experimental Research)

Dubovyk O. S. , Mishyna M. M.

Abstract. Despite the progress in development and improvement of the existing therapy methods of purulent-inflammatory processes, this problem remains the foreground in modern biology and medicine. The antimicrobial therapy with the use of incoherent LED irradiation is one of the perspective trends for solving this problem.

That is why the aim of the given work was the study of immune and cytokine states peculiarities under the effect of blue and red spectrum LED irradiation and complex application with antimicrobial preparations at purulent-inflammatory processes.

The object and methods of the research. Experimental research conducted on 64 mice of inbred lines BALB/cJLacSto. The experiments were carried out according to the national General Ethics Principles for Experiments on Animals (Ukraine, 2001) which are agreed upon by the principles of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18.03.1986). The immune-morphological research was conducted on the paraffin sections with thickness of 5-6 μm by the indirect method of Kuns according to Brosman technology. Immune cells were differentiated by means of monoclonal antibodies to different cell types of Serotec Company. The number of cytokines cells producer was calculated within sight of ×400.

The results of the research and its consideration. Analyzing the dynamics of phagocytic number of neutrophils indices and their absorbency under the effect of blue and red spectrum LED irradiation *per se* and in complex with novapim it was stated that in experimental groups animals with inflammatory focus processed by antiseptic preparation and irradiation by blue LED, the integral phagocytosis indices did not practically differ from the animal group of positive control.

Under fluorescent study of preparations stained by acridine orange it was stated that after interaction with antigens *in vitro*, neutrophils formed extracellular grid-like structures which were well visualized. They can trap both latex specks and any antigen more effectively than a living cell. Thus, bacterial agents stimulate the formation of extracellular traps while neutrophil loses vitality but continues to perform a protective function.

As a result of study it was stated that animals' general immunity state in experimental groups was accompanied by pronounced lowering of the content of separate subpopulation of these cells: the number of all studied subpopulations of T-lymphocytes with differentiation markers CD3⁺, CD4⁺, CD11⁺, CD18⁺ was reliably lowered. Along with T-system oppression the increase of the number of CD22⁺ B-lymphocytes is marked. This fact can be considered key receptors stimulating the signal passage during antigen stimulation. Analyzing the subpopulation composition of lymphocytes the state of killer site can be marked: CD8⁺ number lowering.

Analyzing the effect of complex therapy with the use of LED irradiation it should be mentioned that all groups showed the renewal of the immunity cell site. The best indices were fixed in groups with inflammatory focus irradiation by red LED.

In the cytokine status determining it was stated that the reliable increase of IL-1 β concentrations in infected animals was fixed both in blood serum and in tissues, and TNF- α was compared with the control group, and the level of the anti-inflammatory IL-4 interleukin was reliably lowered.

The carried out research of the inflammatory focus content allowed the establishing the fact that among inflammatory infiltrate cells the population of cells-producers of anti-inflammatory IL-1 β cytokine increased while under the effect of blue light the number of these cells decreased; the anti-inflammatory reaction increased under the effect of red light but complex application of blue and red LEDs with novapim blocked the anti-inflammatory reaction and relieved the antigen load.

Conclusions. Thus, in complex application of antimicrobial preparations and LED irradiation on the inflammatory focus after antiseptic preparation processing the organism's immune state is characterized by sufficient lowering of the inflammatory processes level emphasis and leads to the renewal of the character of both local and general immune reactions with adequate correlation of its main sites.

Keywords: purulent-inflammatory processes, immunocytokine state, LED irradiation.

Стаття надійшла 23.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування