

Міністерство освіти та науки України
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПУШКАР ОЛЕНА СЕРГІЇВНА

УДК 616.5-001.15-06:618.19-006.6-085.849]-039.71-085.832.3(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПРОФІЛАКТИКА РАННІХ ТА ЛІКУВАННЯ ПІЗНІХ ПРОМЕНЕВИХ
УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ З ВИКОРИСТАННЯМ ФОТОМАГНІТНОЇ ТА
ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ
(клініко-експериментальне дослідження)**

Галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»
Спеціальність 222 – «Медицина»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела

О.С. Пушкар

Науковий керівник: Красносельський Микола Вілленович, доктор медичних
наук, професор

Харків – 2024

АНОТАЦІЯ

Пушкар О. С. Профілактика ранніх та лікування пізніх променевиx ушкоджень шкіри з використанням фотоманітної та фотодинамічної терапії.
– Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (Галузь знань – 22 «Охорона здоров'я»). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2024.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню актуального наукового завдання у онкології – вивченню клінічної, метаболічної та антибактеріальної ефективності фотоманітного та фотодинамічного впливу на місцеві променеві ушкодження шкіри з метою оптимізації лікувальної тактики онкологічних хворих.

Мета дослідження полягає в оптимізації тактики ведення онкологічних хворих та розробленні підходів щодо удосконалення профілактики ранніх і підвищенні ефективності лікування пізніх променевиx ушкоджень шкіри на підставі вивчення ефектів фотоманітного та фотодинамічного впливу.

Для досягнення цієї мети було сформульовано наступні завдання дослідження: 1) вивчити терміни і частоту виникнення променевиx ушкоджень шкіри у хворих на рак грудної залози (РГЗ); 2) створити експериментальну модель променевого ушкодження шкіри щурів; 3) вивчити особливості перебігу та макроскопічну характеристику променевиx виразок шкіри на моделі щурів; 4) дослідити патоморфологічні особливості променевиx виразок шкіри та підлеглих тканин на експериментальній моделі щурів у разі спонтанного загоєння, при застосуванні фотодинамічної терапії (ФДТ) та у комбінації зі збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP); 5) вивчити системні ефекти ФДТ при лікуванні променевиx виразок на експериментальній моделі щурів; 6) оцінити вплив фотоманітної терапії на місцеві та системні реакції організму у хворих на РГЗ; 7) провести

порівняльний аналіз й обґрунтувати доцільність застосування фотоманітної терапії при веденні хворих на РГЗ під час променевої терапії.

У межах клінічної частини дослідження було обстежено 26 жінок з діагнозом РГЗ (II–IIIБ стадії) віком 35–65 років. З них 16 жінок отримували фотоманітну терапію з метою профілактики розвитку ранніх променевих ушкоджень шкіри (еритема, дерматит, десквамація та ін.) під час післяопераційного променевого лікування. Пацієнтки, включені до дослідження, мали підтверджений гістологічно діагноз РГЗ, усім була виконана радикальна мастектомія й призначено післяопераційну променеву терапію в режимі класичного фракціонування РВД 2 Гр по 20 фракцій (1 фракція на добу, 5 разів на тиждень) до СВД 40 Гр на над-, підключичну і парастернальну ділянки та післяопераційний рубець.

Для оцінки ефективності запропонованих методів оптимізації тактики ведення ранніх МПУ шкіри у хворих на РГЗ вивчали ряд показників: інтенсивність проявів шкірних реакцій, стан маркерів метаболізму сполучної тканини, стан системи гемостазу у хворих на РГЗ під час променевого лікування.

Для з'ясування механізмів місцевої дії ФМТ на опромінену шкіру в сироватці крові хворих на РГЗ визначали показники стану метаболізму сполучної тканини, а саме маркери обміну основного білка шкіри – колагену й основних метаболітів міжклітинного матриксу – глікозаміногліканів (ГАГ). Стан обміну колагену визначали за кількістю оксипроліну (ОП).

Після проведення курсу ПТ у групі порівняння відбулося вірогідне підвищення вмісту всіх сироваткових фракцій ОП на 25–45% у порівнянні з нормою ($p < 0,05$). Водночас відношення вмісту вільного ОП у сироватці крові до вмісту зв'язаного знижувалося на 14,0 % ($p < 0,05$).

Зміни у вмісті фракцій досліджуваних метаболітів ОП відбувалися на тлі збільшення сумарної концентрації ОП у сироватці крові на 27,0% відносно показників до ПТ і на 34,1% відносно показників групи донорів ($p < 0,05$). Така картина може свідчити про активацію метаболізму колагену в опроміненій

шкірі, причому як розпаду, так і синтезу зазначеного білку. Проте зменшення відношення вільного ОП до зв'язаного вказує все ж таки на превалювання процесів синтезу й накопичення колагену. Це свідчить про активацію метаболізму колагену в опроміненій шкірі, причому як розпад, так і синтез зазначеного білку. В основній групі хворих подібних змін не спостерігалось. Проведення ФМТ вірогідно зменшило інтенсивність метаболізму колагену: зазначено більш низький вміст як вільного ОП (на 12,4%, $p < 0,05$), так і зв'язаного ОП (на 21,2%, $p < 0,05$) у сироватці крові хворих у порівнянні з групою контролю. Рівень сумарного ОП був у межах вихідних значень до променевої і фотоманітної терапії – $(22,05 \pm 1,01)$ і $(23,77 \pm 0,61)$ мкмоль/л, відповідно ($p > 0,05$), та був вірогідно нижчий за такий у контролі ($p > 0,05$). Отже, активація метаболізму колагену в опроміненій шкірі у хворих, які отримували з ФМТ, мала місце, проте її інтенсивність була значно нижчою, ніж у групі порівняння, зокрема, інтенсивність синтезу й накопичення колагену шкіри.

Для характеристики стану міжклітинного матриксу було проведено дослідження вмісту ГАГ та їхнього фракційного складу, сумарних хондроїтинсульфатів (ХС) і вмісту позаклітинних білків глікопротеїнів (ГП). Після курсу ПТ у хворих групи порівняння відзначалося різке підвищення ГАГ, сумарних ХС і ГП (у 2,5; 2 та 3 рази, відповідно ($p < 0,05$) у порівнянні з нормою і початковими значеннями до ПТ. Це вказує як на посилення запальних реакцій в опроміненій шкірі, так і на початок розвитку в сполучній тканині деструктивних процесів. У пацієток основної групи вміст усіх цих метаболітів міжклітинного матриксу практично не змінювався і зберігався в межах початкових значень. Так, показники сумарних ГАГ і ХС відповідали нормальним, а рівень ГП залишався підвищеним щодо норми приблизно вдвічі ($p < 0,05$) та не змінювався щодо початкового значення. Аналіз змін фракційного складу ГАГ свідчить, що різке підвищення вмісту сумарних ГАГ відбувалося переважно за рахунок I та II фракцій. У пацієток основної групи фракційний склад ГАГ суттєво не змінювався за період проведення ПТ,

відповідно цьому всі показники вмісту фракцій, що вивчалися, після ПТ були вірогідно нижче у 2–4 рази аналогічних показників у групі порівняння ($p < 0,05$).

На основі аналізу стану гемостатичного потенціалу оцінено вплив фотоманітної терапії з використанням фотодіодів червоного та синього кольору на системному рівні. Виявлено позитивний ефект розробленої схеми ФМТ на стан системи гемостазу у хворих на РГЗ під час проведення ПТ. Вихідний рівень гіперкоагуляції, притаманний цим хворим, значно знижувався, при цьому фібринолітична ланка гемостазу нормалізувалася, що мінімізувало ризик розвитку ДВЗ-синдрому в обстежених хворих. Отже, фотоманітна дія на шкіру хворих на РГЗ запобігала фібротизації і розвитку передумов для виникнення променевого фіброзу, а також розбалансуванню різних ланок системи гемостазу.

Проведено порівняльний аналіз результатів використання ФМТ та традиційних методів лікування на підставі класифікації МПУ, розробленої Національним Інститутом Раку США (NCI). Виявлено, що використання ФМТ у період проведення ПТ дало змогу знизити ступінь тяжкості радіаційно-індукованих шкірних реакцій порівняно з референтною групою, де ушкодження досягали II ступеня тяжкості, а в однієї хворої початкова фаза відповідала III ступеню. У хворих, які отримували ФМТ, реакції шкіри не перевищували I ступінь, дискомфорт був мінімальним, відбувалося раннє зникнення шкірних дефектів.

Експериментальна частина дисертаційної роботи присвячена обґрунтуванню ефективності використання самостійно ФДТ та у комбінації з PRP для оптимізації лікування пізніх МПУ шкіри (променевих виразок).

Задля оцінки ефективності методу досліджувались особливості перебігу та макроскопічна характеристика променевих виразок шкіри та підлеглих тканин; їх подальше інфікування та місцевий антимікробний ефект ФДТ; особливості процесів загоєння променевих виразок.

Експеримент проводили на 126 щурах. Щури були розподілені на 5 груп,

включно з групою інтактного контролю – 1 група. У групах 2-5 проведено інфікування променевої виразки мікробним агентом (музейний штам *Staphylococcus aureus*). 4 групі щурів проводилася самостійна терапія ФДТ, 5 групі – комбінована терапія (ФДТ+PRP). Моделювання променевих виразок у щурів проводилося шляхом опромінення в дозі 85,0 Гр на рентгенівській установці Faxitron MultiRad 225. В експериментах на інтактних щурах вивчено особливості гістологічної характеристики шкіри, що доповнює наявні дані літератури.

Застосування ФДТ на зону опромінення шкіри значно зменшило частоту розвитку променевих дерматитів у щурів, прискорювало їхнє загоєння, полегшило перебіг ранового процесу. Так, у тварин із ФДТ, практично не було еритеми, крововиливи та лущення шкіри фіксували у вірогідно меншій кількості тварин, значно менше було і струпів. У щурів з ФДТ зовсім не розвивався вологий дерматит, частота розвитку сухого дерматиту була значно меншою, а регенераторна фаза починалася вже на 21 добу, тоді як у контрольній групі лише на 30 добу розвивалися візуально помітні ознаки регенерації. Тобто переважання регенераторних процесів над запальними в лікованих групах починалося раніше приблизно на 1,5 тижні. Наприкінці першого місяця досліджень поверхня променевого дефекту повністю очищувалася, з'являвся повноцінний шерстний покрив. Повне загоєння рани з повноцінною епітелізацією та якісним відновленням шерстного покриву відзначалося раніше на 1,5 тижні, ніж у контролі, причому частота ознак віддалених наслідків опромінення шкіри (рубці, ділянки гіперпігментації) знижувалася в декілька разів.

Досконально вивчені гістологічні показники будови променевої виразки на різних етапах її розвитку у вигляді лейкоцитарно-некротичного та демаркаційно-лейкоцитогрануляційного валу. Встановлено очищення поверхні променевої виразки від гнійно-некротичної маси та патогенетичної флори під впливом ФДТ із послідовним заповненням порожнини сполучною тканиною, яка покривалась епітеліальним пластом із регенерацією придатків шкіри.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у комплексному підході до вивчення впливу ФМТ та ФДТ на стан шкірних реакцій у онкологічних хворих під час проведення ПТ та в експерименті зі змодельованою променевою виразкою шкіри щурів. Оцінку проведено за результатами аналізу комплексу клінічних, біохімічних, метаболічних та патоморфологічних показників.

У хворих на РГЗ на тлі проведення променевої терапії при застосуванні фотомагнітної терапії встановлено зміни у клінічних проявах, що характеризувались збільшенням тривалості латентного періоду – появи перших ознак первинної еритеми на 3-тю – 5-ту добу, що запобігало розвитку клінічних проявів променевих уражень шкіри аж до останніх сеансів променевої терапії.

Отримані нові дані про дію ФМТ та ФДТ на основні показники гомеостазу на системному рівні у вигляді нормалізації стану ПОЛ, активації антиоксидантних ферментів крові та активності обміну сполучної тканини, а також запобіганню розбалансування у різних ланках системи гемостазу. Застосування цих методів лікування є перспективним напрямком в онкології, радіології та хірургії для рішення проблеми зниження тяжкості перебігу ранніх МПУ шкіри під час проведення ПТ та довготривалих незагоєваних променевих виразок шкіри.

Підсумком комплексу патоморфологічних досліджень стали нові уявлення про особливості перебігу променевих виразок шкіри та підлеглих тканин у щурів при застосуванні окремо фотодинамічної терапії (ФДТ) та у комбінації фотодинамічної терапії зі збагаченою тромбоцитами плазмою (ФДТ+PRP).

Практичне значення отриманих результатів. На підставі отриманих результатів встановлено, що для профілактики ранніх променевих уражень шкіри та підшкірної клітковини при проведенні сеансів променевої терапії доцільно проводити сеанси ФМТ на ділянку опромінення для поліпшення стану кровообігу, регенерації клітин шкіри, зменшення набряку та болю. При пізніх променевих ураженнях (променеві виразки) для очищення від

некротичних тканин та пошкоджених клітин застосовують ФДТ – спосіб, заснований на спільному використанні фотосенсибілізатора (метиленового синього), нанесеного на поверхню шкіри з наступним впливом лазерного світла довжиною хвилі 630-660 нМ, або варіант комбінованої фотодинамічної терапії з використанням збагаченої тромбоцитами плази для підвищення репаративних властивостей методу.

Доцільно проводити повторні сеанси ФДТ до повного очищення порожнини променевої виразки, а в разі необхідності, можливо проведення аутотрансплантації клаптем з осьовим кровообігом.

Рекомендована схема фотомагнітної терапії з використанням фотодіодів червоного кольору у хворих на РГЗ під час проведення ад'ювантного променевого лікування.

Ключові слова: місцеві променеві ураження, фотодинамічна терапія, фотомагнітна терапія, фотодіоди, рак грудної залози, сполучна тканина.

ABSTRACT

Pushkar O. S. Prevention of early and treatment of late local radiation damage to the skin using photomagnetic and photodynamic therapy. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 - Medicine (Field of knowledge - 22 Health care). - V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2024.

The purpose of the study is to optimize the management of oncology patients and develop approaches to improve the prevention of early and increase the effectiveness of treatment of late radiation damage to the skin based on the study of the effects of photomagnetic and photodynamic exposure.

To achieve this goal, the following research tasks were formulated: 1) to study the timing and frequency of radiation damage to the skin in patients with breast cancer (BC); 2) to create an experimental model of radiation damage to the skin of rats; 3) to study the features of the course and macroscopic characteristics of radiation skin ulcers on the rat model; 4) to investigate the pathomorphological features of radiation ulcers of the skin and underlying tissues on an experimental rat model in the case of spontaneous healing, when using photodynamic therapy (PDT) and in combination with platelet-rich plasma (PRP); 5) to study the systemic effects of PDT in the treatment of radiation ulcers on an experimental rat model; 6) evaluate the effect of photomagnetic therapy on local and systemic reactions of the body in patients with BC; 7) conduct a comparative analysis and substantiate the expediency of using photomagnetic therapy in the management of patients with BC during radiation therapy (RT).

The dissertation is dedicated to the research of an actual scientific task in oncology - the study of the clinical, metabolic and antibacterial effectiveness of photomagnetic and photodynamic effects on local radiation damage to the skin in order to optimize the treatment tactics of cancer patients.

Within the scope of the clinical part of the study, 26 women with a diagnosis of ovarian cysts (II–IIIB stages) aged 35–65 years were examined. Of these, 16 women received photomagnetic therapy to prevent the development of early radiation damage to the skin (erythema, dermatitis, desquamation, etc.) during postoperative radiation treatment. The patients included in the study had a histologically confirmed diagnosis of BC, all underwent radical mastectomy and were prescribed postoperative radiation therapy in the mode of classical fractionation of ROD 2 Gy in 20 fractions (1 fraction per day, 5 times a week) up to SOD 40 Gy per, subclavian and parasternal areas and postoperative scar.

To evaluate the effectiveness of the proposed methods of optimizing the tactics of managing early local radiation damages (LRD) of the skin in patients with BC, several indicators were studied: the intensity of manifestations of skin reactions, the state of markers of connective tissue metabolism, the state of the hemostasis system in patients with BC during radiation treatment.

To find out the mechanisms of the local effect of PMT on irradiated skin, indicators of the metabolic state of connective tissue were determined in the blood serum of patients with BC, namely, markers of the exchange of the main protein of the skin - collagen and the main metabolites of the intercellular matrix - glycosaminoglycans (GAG). The state of collagen metabolism was determined by the amount of oxyproline (OP).

After the course of PT in the comparison group, there was a probable increase in the content of all serum fractions of OP by 25–45% compared to the norm ($p < 0.05$). At the same time, the ratio of the content of free OP in blood serum to the content of bound decreased by 14.0% ($p < 0.05$).

Changes in the content of the fractions of the studied OP metabolites occurred against the background of an increase in the total concentration of OP in the blood serum by 27.0% relative to the indicators before RT and by 34.1% relative to the indicators of the donor group ($p < 0.05$). Such a picture may indicate the activation of collagen metabolism in irradiated skin, and both the breakdown and synthesis of the specified protein. However, the decrease in the ratio of free OP to the bound one still

indicates the prevalence of collagen synthesis and accumulation processes. This indicates the activation of collagen metabolism in the irradiated skin, and both the breakdown and synthesis of the specified protein. Similar changes were not observed in the main group of patients. Performing PMT probably reduced the intensity of collagen metabolism: a lower content of both free OP (by 12.4%, $p < 0.05$) and bound OP (by 21.2%, $p < 0.05$) in the serum was noted blood of patients compared to the control group. The level of total OP was within the baseline values before radiation and photomagnetic therapy - (22.05 ± 1.01) and (23.77 ± 0.61) $\mu\text{mol/l}$, respectively ($p > 0.05$), and was probably lower than in the control ($p > 0.05$). Thus, activation of collagen metabolism in irradiated skin in patients treated with PMT took place, but its intensity was significantly lower than in the comparison group, in particular, the intensity of skin collagen synthesis and accumulation.

To characterize the state of the intercellular matrix, a study was conducted of the content of GAG and their fractional composition, total chondrocyte sulfates (CS) and the content of extracellular proteins glycoproteins (GP). After the course of PT, the patients of the comparison group had a sharp increase in GAG, total CH, and HP (in 2.5, 2 and 3 times, respectively ($p < 0.05$) in comparison with the norm and initial values before PT. This indicates an increase inflammatory reaction in the irradiated skin, as well as the beginning of the development of destructive processes in the patients of the main group, the content of all these metabolites of the intercellular matrix did not change and remained within the initial values remained elevated approximately twice as compared to the norm ($p < 0.05$) and did not change compared to the initial value. The analysis of changes in the fractional composition of GAG showed that the sharp increase in the content of total GAG occurred mainly due to fractions I and II. In the main group, the fractional composition of GAG was significant did not change during the RT period, accordingly, all indicators of the content of studied fractions after RT were probably 2-4 times lower than similar indicators in the comparison group ($p < 0.05$).

Based on the analysis of the state of the hemostatic potential, the effect of photomagnetic therapy using red and blue photodiodes at the system level was

evaluated. The positive effect of the developed PMT scheme on the state of the hemostasis system in patients with BC during RT was revealed. The initial level of hypercoagulation inherent in these patients was significantly reduced, while the fibrinolytic link of hemostasis was normalized, which minimized the risk of developing DIC-syndrome in the examined patients. Therefore, the photomagnetic effect on the skin of patients with BC prevented fibrotization and the development of prerequisites for the occurrence of radiation fibrosis, as well as the imbalance of various links of the hemostasis system.

A comparative analysis of the results of using PMT and traditional treatment methods was conducted based on the MPU classification developed by the US National Cancer Institute (NCI). It was found that the use of PMT during the period of RT made it possible to reduce the severity of radiation-induced skin reactions compared to the reference group, where the injuries reached the II degree of severity, and in one patient the initial phase corresponded to the III degree. In patients who received PMT, skin reactions did not exceed the first degree, discomfort was minimal, and early disappearance of skin defects occurred.

The experimental part of the dissertation work is devoted to substantiating the effectiveness of using PDT alone and in combination with PRP to optimize the treatment of late skin LRD (radiation ulcers).

To evaluate the effectiveness of the method, the peculiarities of the course and macroscopic characteristics of radiation ulcers of the skin and underlying tissues were studied; their further infection and local antimicrobial effect of PDT; peculiarities of healing processes of radiation ulcers.

The experiment was conducted on 126 rats. The rats were divided into 5 groups, including the intact control group - 1 group. In groups 2-5, radiation ulcer was infected with a microbial agent (museum strain of *Staphylococcus aureus*). The 4th group of rats received independent PDT therapy; the 5th group received combined therapy (PDT+PRP). Modeling of radiation ulcers in rats was carried out by irradiation at a dose of 85.0 Gy on a Faxitron MultiRad 225 x-ray unit. In

experiments on intact rats, the peculiarities of the histological characteristics of the skin were studied, which complements the available literature data.

Application of PDT to the irradiated skin area significantly reduced the incidence of radiation dermatitis in rats, accelerated their healing, and eased the course of the wound process. Thus, in animals with PDT, there was practically no erythema, hemorrhages and peeling of the skin were recorded in a probably smaller number of animals, and there were significantly fewer scabs. PDT rats did not develop wet dermatitis at all, the frequency of dry dermatitis was significantly lower, and the regenerative phase began already on day 21, while in the control group, visually noticeable signs of regeneration developed only on day 30. That is, the predominance of regenerative processes over inflammatory processes in the treated groups began earlier by about 1.5 weeks. At the end of the first month of research, the surface of the radiation defect was completely cleaned, a full-fledged fur coat appeared. Complete healing of the wound with complete epithelization and high-quality restoration of the fur coat was noted 1.5 weeks earlier than in the control, and the frequency of signs of remote effects of skin irradiation (scars, areas of hyperpigmentation) decreased several times.

The histological indicators of the structure of a radiation ulcer at various stages of its development in the form of a leukocyte-necrotic and demarcation-leukocytogranulation shaft have been thoroughly studied. It was established that the surface of the radiation ulcer was cleaned of purulent-necrotic mass and pathogenetic flora under the influence of PDT with successive filling of the cavity with connective tissue, which was covered with an epithelial layer with regeneration of skin appendages.

The scientific novelty of the obtained results lies in the complex approach to studying the effect of PMT and PDT on the state of skin reactions in patients with BC during RT and in an experiment with a simulated radiation ulcer of the skin of rats. The assessment was carried out based on the results of the analysis of a complex of clinical, biochemical, metabolic and pathomorphological indicators.

In patients with BC, against the background of radiation therapy with the use of photomagnetic therapy, changes in clinical manifestations were established, which were characterized by an increase in the duration of the latent period - the appearance of the first signs of primary erythema on the 3rd - 5th day, which prevented the development of clinical manifestations of radiation skin lesions up to until the last radiation therapy sessions.

New data were obtained on the effect of PMT and PDT on the main indicators of homeostasis at the systemic level in the form of normalization of the state of lipids, activation of blood antioxidant enzymes and activity of connective tissue exchange, as well as prevention of imbalance in various links of the hemostasis system. The use of these treatment methods is a promising direction in oncology, radiology, and surgery to solve the problem of reducing the severity of the course of early LRD of the skin during PT and long-term non-healing radiation skin ulcers.

The result of a complex of pathomorphological studies became new insights into the peculiarities of the course of radiation ulcers of the skin and underlying tissues in rats when using photodynamic therapy (PDT) alone and in combination of photodynamic therapy with platelet-rich plasma (PDT+PRP).

Practical significance of the obtained results. Based on the obtained results, it was established that for the prevention of early radiation damage to the skin and subcutaneous tissue during radiation therapy sessions, it is advisable to conduct PMT sessions on the irradiated area to improve blood circulation, regenerate skin cells, reduce swelling and pain. In case of late radiation damage (radiation ulcers), PDT is used to clean necrotic tissues and damaged cells - a method based on the joint use of a photosensitizer (methylene blue) applied to the surface of the skin followed by exposure to laser light with a wavelength of 630-660 nM, or a variant of combined photodynamic therapy using platelet-enriched plasma to increase the reparative properties of the method.

It is advisable to carry out repeated sessions of PDT until the cavity of the radiation ulcer is completely cleaned, and if necessary, it is possible to carry out auto transplantation with a flap with axial blood circulation.

The recommended scheme of photomagnetic therapy with the use of red photodiodes in patients with BC during adjuvant radiation treatment.

Key words: local radiation damage, photodynamic therapy, photomagnetic therapy, photodiodes, breast cancer, connective tissue.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСТЕРТАЦІЇ

1. **Pushkar OS**, Myroshnychenko MS, Koliada OM. Features of apoptotic and proliferative processes in experimental infected radiation-induced skin ulcer under conditions of photodynamic therapy and the use of platelet-rich plasma. *Pol Merkur Lekarski*. 2024;52(1):54-59. doi: 10.36740/Merkur202401109
URL:<https://polskimerkuriuszlekarSKI.pl/wp-content/uploads/library/PolMerkurLek2024i1.pdf> (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: ідея дослідження, літературний пошук. Особистий внесок Мирошніченко М.С.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Коляда О.М.: узагальнення і підготовка до друку)
2. Krasnoselskyi MV, **Pushkar ES**, Simonova-Pushkar LI, Myroshnychenko MS. Nitric oxide metabolism features under conditions of experimental infected radiation – induced skin injuries development and their treatment with photodynamic therapy. *Wiadomosci lekarskie*. 2020;73(8):1655-1658. doi: 10.36740/WLek202008112 URL:<https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202008112.pdf> (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: літературний пошук, аналіз та опрацювання результатів .Особистий внесок Красносельський М.В.: ідея дослідження, розробка дизайну дослідження. Особистий внесок Сімонова-Пушкар Л.І.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Мірошніченко М.С.: узагальнення і підготовка до друку)
3. Красносельський МВ, **Пушкар ОС**, Сімонова ЛІ, Мірошніченко МС. Вплив фотодинамічної терапії збагаченої тромбоцитами плазми на процеси загоєння променевих виразок шкіри, інфікованих *Staphylococcus aureus*. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020;25:338-352. doi:10.33145/2304-8336-2020-25-338-352
URL:https://www.radiationproblems.org.ua/25_2020/NCRM_2020_Paper_19.pdf (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: літературний пошук, аналіз та

опрацювання результатів. Особистий внесок Красносельський М.В.: ідея дослідження, розробка дизайну дослідження. Особистий внесок Сімонова Л.І.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Мірошниченко М.С.: узагальнення і підготовка до друку)

4. Красносельський МВ, Сімонова ЛІ, Гертман ВЗ, **Пушкар ОС**, Завадська ТС. Тканинні імунні клітини та їх роль у процесах загоєння інфікованих променевиx виразок при впливі фотодинамічної терапії (експериментальне дослідження). Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019;24:250-260. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-250-260 URL:https://www.radiationproblems.org.ua/24_2019/NRCRM_2019_Paper_16.pdf (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: Огляд сучасних літературних джерел із зазначеної проблеми, підготовка статті до друку. Особистий внесок Красносельського М.В.: Ідея дослідження. Особистий внесок Сімонової Л.І.: Опрацювання та узагальнення матеріалу, підготовка статті до друку. Особистий внесок Гертман В.З.: Опрацювання та статистична обробка результатів дослідження. Особистий внесок Завадська Т.С.: Огляд сучасних літературних джерел із зазначеної проблеми)

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	51
2.1 Матеріали та методи клінічних досліджень.....	52
2.1.1 Дизайн клінічного дослідження.....	52
2.1.2 Лабораторні методи.....	54
2.1.3 Статистичні методи.....	56
2.2 Матеріали та методи експериментальних досліджень.....	56
2.2.1 Дизайн експериментального дослідження <i>in vivo</i>	56
2.2.2 Дослідження <i>in vitro</i>	62
РОЗДІЛ 3. ПРОФІЛАКТИКА РАННІХ ПРОМЕНЕВИХ УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ЧАС ПРОМЕНЕВОГО ЛІКУВАННЯ ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ ФОТОМАГНІТНОЇ ТЕРАПІЇ	70
3.1 Вплив фотоманітної терапії на стан шкірних реакцій у хворих на рак грудної залози (РГЗ) під час променевого лікування.....	70
3.2 Вплив фотоманітної терапії на стан маркерів метаболізму сполучної тканини в сироватці крові хворих на РГЗ під час променевого лікування.....	83
3.3 Вплив фотоманітної терапії на стан системи гемостазу у хворих на РГЗ під час променевого лікування.....	90
РОЗДІЛ 4. МІСЦЕВІ ТА СИСТЕМНІ ЕФЕКТИ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ (ФДТ) ПРИ ЛІКУВАННІ ПРОМЕНЕВИХ ВИРАЗОК ШКІРИ У ЩУРІВ	95
4.1 Місцеві ефекти впливу ФДТ та комбінованого методу ФДТ + PRP при лікуванні променевиx виразок у щурів	96

4.1.1 Особливості перебігу та макроскопічна характеристика променевих виразок шкіри у щурів.....	96
4.1.2 Показники місцевого антимікробного ефекту після ФДТ на бактеріально інфіковані <i>Staphylococcus aureus</i> променеві виразки шкіри у щурів.....	99
4.1.3 Патоморфоз променевих виразок шкіри та підлеглих тканин у щурів при спонтанному загоєнні та при застосуванні ФДТ та комбінованого методу ФДТ + PRP.....	102
4.2 Системні ефекти фотодинамічної терапії при лікуванні променевих виразок шкіри у щурів.....	121
4.2.1 Стан периферичної крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані рани.....	121
4.2.2 Стан про- та антиоксидантного гомеостазу при місцевому впливі ФДТ на інфіковані <i>Staphylococcus aureus</i> променеві виразки шкіри у щурів	125
4.2.3 Вміст метаболітів оксиду азоту в сироватці крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані <i>Staphylococcus aureus</i> променеві виразки шкіри у щурів.....	133
4.2.4 Стан коагуляційного потенціалу в сироватці крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані <i>Staphylococcus aureus</i> променеві виразки шкіри у щурів.....	137
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	144
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	157
ВИСНОВКИ.....	158
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	161
ДОДАТКИ.....	183

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АК – абсолютна кількість;
- АО – антиоксиданти;
- ГАГ – глікозаміноглікани;
- ГП – глікопротеїни;
- ДК – дієнові кон'югати;
- ІГХД – імуногістохімічне дослідження;
- ІГХР – імуногістохімічна реакція;
- ЛО – локальне опромінення;
- МДА – малоновий діальдегід;
- МКА – моноклональні антитіла;
- МПУ – місцеві променеві ушкодження;
- МТ – магнітна терапія;
- ОА – оксид азоту;
- ОП – оксипролін;
- ПДФ – продукти деградації фібрину;
- ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
- ПТ – променева терапія;
- РВД – разова вогнищева доза;
- РГЗ – рак грудної залози;
- РФМК – розчинні фібрин-мономерні комплекси;
- СВД – сумарна вогнищева доза;
- СОД – супероксиддисмутаза;
- СФА – сумарна фібринолітична активність.
- ФДТ – фотодинамічна терапія;
- ФМТ – фотомагнітна терапія;
- ФС – фотосенсибілізатор;
- ХС – хондроїтинсульфати;
- PRP – platelet rich plasma (плазма збагачена тромбоцитами)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Променева терапія входить до арсеналу основних методів лікування онкологічних хворих. Сучасна апаратура для променевої терапії та методи її планування дають можливість ефективно впливати на пухлини у досить високих дозах опромінення, необхідних для їх знищення. Але при цьому тканини, які оточують пухлину також зазнають променевого навантаження, наслідком чого можуть стати променеві ушкодження здорових органів та тканин, найпоширенішим з яких є місцеві променеві ураження (МПУ) шкіри та підлеглих тканин, оскільки вони зазнають впливу випромінення при більшості локалізацій пухлин [1]. Тяжкість МПУ шкіри та підлеглих тканин залежна від часу дії і СВД іонізуючої радіації та варіює від помірної до важкої, що загрожує якості життя пацієнтів. Променеві ушкодження шкіри онкологічних хворих виникають частіше при комбінованих діях, при хіміопроменевій терапії, при лікуванні рецидивів, у хворих літнього віку чи з супутньою патологією тощо [2, 3]. У тяжких випадках променеві ушкодження, можуть призвести до інвалідизації хворих.

Незважаючи на вдосконалення та впровадження високотехнологічних методик променевої терапії (визначення оптимального розподілу дози випромінення в часі і в тканині пухлини), а також розробку та вдосконалення методів захисту тканин поза зоною ураження, проблема зниження частоти виникнення, тяжкості перебігу та лікування променевих уражень шкіри та підлеглих тканин залишається актуальною.

Патогенетичними особливостями МПУ шкіри є неухильне прогресування як його клінічних проявів (гіперемія, набряк, порушення мікроциркуляції, болісність, підвищення температури в зонах опромінювання), так і морфологічних змін шкіри. Тому превентивну локальну дію, направлену на запобігання розвитку постпроменевих патологічних процесів в шкірі, можна вважати обґрунтованою і доцільною.

Основні вимоги до профілактики та лікування МПУ шкіри припускають поліпшення або відновлення мікроциркуляції, ослаблення набряку та запалення, знеболення, стимуляцію репарації. Всім цим вимогам відповідає вплив на зони, що підпадають під дію іонізуючої радіації, фотоманітного випромінення.

При проведенні дослідження використовувались два фізичних чинника. Перший чинник у вигляді «червоного» світла в оптичному діапазоні (630-660нм), який проникає на глибину 2,5 см з помірною енергією кванта 1,77 еВ. Це забезпечує стимуляцію репараційних процесів по всій глибині післяопераційної рани.

Другим фізичним чинником для якого доведена здатність стимулювати різного роду репаративні процеси в організмі може бути енергія манітного поля, яка здатна ініціювати ряд манітобіологічних ефектів, що нівелюють шкідливі наслідки іонізуючої радіації.

Манітотерапію пробували використовувати також для лікування пізніх променевих ушкоджень деяких органів, наприклад, променевого фіброзу легень у хворих на РГЗ [4], променевих циститів [5] з позитивними результатами в окремих випадках.

Показано, що використання манітної терапії (МТ) в післяопераційному періоді прискорює загоєння ран, покращує мікроциркуляцію в тканинах, підсилює їх кровопостачання, гальмує процеси склерозування і фібротизації в опромінених органах і тканинах, знижуючи тим самим частоту розвитку місцевих променевих ушкоджень.

Поєднання дії двох фізичних чинників однонаправленої біологічної дії (фотонного і манітного випромінення) застосовувалось для отримання адитивного ефекту з метою профілактики та лікування МПУ шкіри.

Найтяжчим видом пізніх місцевих променевих ушкоджень шкіри і м'яких тканин є променеві виразки [6]. На даний час променеві виразки розвиваються найчастіше в пізні терміни після опромінювання, частота їх

розвитку варіює від 5 до 15 % [7]. Лікування променевиx виразок є найбільш важкою проблемою зі всіх видів лікування променевиx ушкоджень шкіри.

Заходи профілактики і консервативного лікування променевиx ушкоджень шкіри в основному полягають в поліпшенні мікроциркуляції і стимуляції відновних і проліферативних процесів.

Особливою проблемою лікування променевиx ушкоджень взагалі, а особливо променевиx ушкоджень шкіри, є усунення локальної інфекції, яка часто вегетує в променевиx дефектах шкіри при пошкодженні епідермісу: при вологому (ексудативному) епідерміті і дерматиті, а особливо – в променевиx виразках. Контроль інфікування променевиx виразок особливо важливий для запобігання сепсису.

Традиційним методом лікування інфікованих ран є застосування антибіотиків. Проте, на даний час подібне лікування значно ускладнюється розвитком резистентності до антибіотиків у все більшої кількості мікроорганізмів. На цьому фоні все більший розвиток отримує використання немедикаментозних методів лікування ран, одним з яких є фотодинамічна терапія (ФДТ).

Фотодинамічна терапія є перспективним напрямком медицини, що бурхливо розвивається, як в галузі онкології, так і при лікуванні неонкологічних захворювань. ФДТ справляє світлозалежну дію на патологічний осередок з обов'язковою участю фотосенсибілізатора (ФС). Найширше ФДТ застосовується в онкології для лікування шкірних та інших поверхнево розташованих злоякісних пухлин [8–10]. Проте, і в інших галузях медицини починають використовувати потенціал цього методу.

На наш погляд, найбільший інтерес привертає новий напрямок використання ФДТ для лікування інфікованих дефектів шкіри і м'яких тканин [11]. Трофічні виразки та рани, які тривало не загоюються, розвиваються як в результаті травматизації, так і у вигляді ускладнень при багатьох захворюваннях – цукровому діабеті, венозній недостатності, тромбозах, облітеруючому атеросклерозі і таке інше [12, 13].

Практично завжди їхній перебіг супроводжується бактерійним забрудненням, що значно ускладнює репарацію ран і виразок [14]. Лікування подібних інфікованих ушкоджень шкіри і м'яких тканин на даний час значно ускладнюється появою все більшої кількості антибіотикостійких штамів мікроорганізмів [15–18]. На цьому фоні все більш широко вживаним і найбільш доцільним способом лікування стає фотодинамічна терапія, яка здатна як пригнічувати інфекції, так і стимулювати репаративні процеси.

Додатковим методом, що може пришвидшити репаративні властивості ФДТ, позитивно впливати на ангиогенез, покращувати формування фіброзної тканини є використання збагаченої тромбоцитами плазми (PRP) [15–17.]

За рахунок великої кількості факторів росту, що зумовлено великою кількістю тромбоцитів, PRP має великий спектр біологічної дії, зокрема ініціює каскад реакцій відновлення структури тканини. За даними літератури, виявлені ключові фактори росту, серед інших, включають бета-1 трансформуючий фактор росту ($TGF\beta 1$), що впливає на реплікацію та проліферацію; тромбоцитарний фактор росту (PDGF), що чинить реепітелізаційну дію, має істотний вплив на ангиогенез, допомагає формуванню фіб розної тканини; епідермальний фактор росту (EGF), що має вплив на мітогенез ендотеліальних клітин, фібробластів і кератиноцитів. Вміст васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) чинить значний вплив на заживлення хронічного раньового процесу, зокрема на ангиогенез.

Фактори росту відіграють важливу роль у всіх фазах запалення, проліферації та регенерації та забезпечують більш якісне загоєння ран [18, 19].

Також слід відмітити, що завдяки свої аутологічній природі, збагачена тромбоцитами плазма має велику біодоступність, водночас не викликаючи алергізації [20, 21]

У літературі зустрічаються тільки поодинокі дослідження використання ФДТ для лікування променеви́х пошкоджень шкіри, а літературних даних про використання з цією метою PRP немає взагалі. Так, була показана ефективність ФДТ для лікування променеви́х виразок шкіри у щурів в

експерименті із значним прискорюванням їх загоснення [22, 23].

Дослідження показали, що локальне опромінення ділянки шкіри лабораторних щурів викликає збільшення спонтанного мікробного обсіменіння опроміненої ділянки і появу додаткових видів мікроорганізмів, у тому числі патогенних [2, 24].

Це ще раз підтверджує, що у будь-якій схемі лікування місцевих променевих ушкоджень шкіри необхідно використовувати антибактеріальні методи.

Актуальність проведення зазначених досліджень обумовлена необхідністю пошуку та удосконалення ефективних схем профілактики ранніх та терапії пізніх променевих ушкоджень шкіри, спрямованих на корекцію імунних порушень, бактеріальних ускладнень та сприянню регресії за допомогою фотоманітного та фотодинамічного впливу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ХНУ імені В.Н. Каразіна за темою «Удосконалення діагностики та індивідуалізація лікування у онкологічних хворих», шифр НДР: МФ 2-20, № держреєстрації НДР:0120U105762, а також у відповідності з планом наукових досліджень ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» і є фрагментом НДР: «Підвищення ефективності профілактики та лікування променевих ушкоджень шкіри за допомогою фотометричної терапії фотонів оптичного діапазону різної енергії», шифр АМН 01.08., номер держреєстрації 0107UO12237, автор проводила ретроспективний аналіз результатів НДР;

«Вивчення ефективності фотодинамічної терапії для лікування інфікованих променевих ушкоджень шкіри», шифр НАМН 02.14., номер держреєстрації 01144000058, де автор була співвиконавцем;

«Вивчення факторів прогнозу та індивідуалізації комплексного лікування пізніх променевих ушкоджень», шифр НАМН 03.19, номер держреєстрації 0118400171, де автор була співвиконавцем.

Тему дисертації та наукового керівника було затверджено на засіданні Вченої ради медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (протокол № 03 від 19 жовтня 2020 року.).

Тему дисертації змінено на «Профілактика ранніх та лікування пізніх променевих ушкоджень шкіри з використанням фотоманітної та фотодинамічної терапії (клініко-експериментальне дослідження)» та затверджено на засіданні Вченої ради медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (протокол № 01 від 17 вересня 2021 року.).

Мета дослідження – оптимізація тактики ведення онкологічних хворих та розробка підходів щодо удосконалення профілактики ранніх і підвищенні ефективності лікування пізніх променевих ушкоджень шкіри на підставі вивчення ефектів фотоманітного та фотодинамічного впливу.

Завдання дослідження:

1. Вивчити терміни і частоту виникнення променевих ушкоджень шкіри у хворих на рак грудної залози (РГЗ);
2. Створити експериментальну модель променевого ушкодження шкіри щурів;
3. Вивчити особливості перебігу та макроскопічну характеристику променевих виразок шкіри на моделі щурів;
4. Дослідити патоморфологічні особливості променевих виразок шкіри та підлеглих тканин на експериментальній моделі щурів у разі спонтанного загоєння, при застосуванні фотодинамічної терапії (ФДТ) та у комбінації зі збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP);
5. Вивчити системні ефекти ФДТ при лікуванні променевих виразок на експериментальній моделі щурів;
6. Оцінити вплив фотоманітної терапії на місцеві та системні реакції організму у хворих на РГЗ;

7. Провести порівняльний аналіз й обґрунтувати доцільність застосування фотоманітної терапії при веденні хворих на РГЗ під час променевої терапії.

Об'єкт дослідження. Ранні та пізні місцеві променеві ураження шкіри та підлеглих тканин, клінічні та патоморфологічні прояви.

Предмет дослідження. Місцеві та системні реакції організму під впливом лікування методами фотодинамічної та фотоманітної терапії та тлі променевої терапії у хворих на РГЗ та при експериментальному дослідженні.

Матеріали дослідження

Дослідження проводились в ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» в клінічному відділенні променевої терапії (акредитаційний сертифікат серія № 014402 від 25.04.2019 р., чинний до 24.02.2022 р.) та в атестованих підрозділах — Лабораторного центру наукових досліджень № 01-0011/2022 від 07.02.2022 року, свідоцтво чинне протягом трьох років з дати реєстрації; Центрі клінічних інструментальних досліджень № 01-0012/22 від 07.02.2022 р, свідоцтво чинне протягом трьох років з дати реєстрації.

Обстежено 26 хворих на РГЗ, основна група – 16, група порівняння – 10 осіб. Проведено експеримент на 126 щурах-самцях.

Методи дослідження: комплекс морфологічних, бактеріологічних, клінічних, біохімічних досліджень, фотодинамічна та фотоманітна терапія

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше проведено клінічне дослідження ефективності фотоманітної у хворих на РГЗ під час проведення променевої терапії для профілактики променевих реакцій шкіри. Встановлено, що фотомодуляція та магнітний вплив при променевій терапії знижувала ступінь тяжкості радіаційно-індукованих шкірних реакцій.

Отримані нові дані щодо дії оптичного випромінювання на показники гомеостазу. Показано, що на рівні організму фотоманітна дія призводила до поліпшення метаболізму в сполучній тканині, про що свідчили показники

метаболізму колагену та позаклітинного матриксу у хворих до та після ПТ. ФМТ також запобігала розбалансуванню у різних ланках системи гемостазу, характерному для дії іонізуючої радіації.

Розроблено схему ФМТ із застосуванням червоної фотонно-магнітної матриці для профілактики ранніх місцевих променевих ушкоджень шкіри під час проходження променевої терапії.

Доповнено наукові дані щодо особливості перебігу раньового процесу інфікованих місцевих променевих ушкоджень (МПУ) при спонтанному загоєнні та на фоні лікування (ФДТ, комбінована терапія ФДТ+PRP) Ретельно досліджено патоморфологічну та макроскопічну картину променевих виразок у щурів при експериментальному дослідженні.

Науково обґрунтовано та доведено ефективність використання ФДТ, яка сприяла більш позитивній динаміці змін імунологічних показників, підвищенням функціональної активності клітин та посиленню регенеративних процесів при експериментальному дослідженні.

Підсумком комплексних клінічних, лабораторних, імунологічних досліджень стали нові уявлення про патоморфологічні особливості променевих виразок шкіри та підлеглих тканин у щурів при застосуванні окремо фотодинамічної терапії (ФДТ) та комбінованої терапії (ФДТ+PRP).

Практичне значення отриманих результатів

На підставі отриманих результатів клініко-лабораторних досліджень впливу ФМТ на стан шкірних реакцій, метаболізм сполучної тканини та гемостатичний потенціал крові хворих на РГЗ під час променевої терапії розроблено та рекомендовано методику, яка може бути широко впроваджена серед даної категорії пацієнтів. З метою мінімізації клінічних проявів та зменшення ризиків ускладнень променевої терапії у хворих на РГЗ рекомендовано впровадження даної методики у хворих при проведенні променевої терапії у профільних закладах МОЗ та НАМН України.

Результатом проведення комплексу морфологічних, бактеріологічних та лабораторних досліджень в експериментальному дослідженні стало наукове обґрунтування та доведена доцільність використання як самостійно ФДТ, так

і комбінованої терапії (ФДТ+PRP) для підвищення ефективності стандартних методів лікування пізніх місцевих променевиx ушкоджень шкіри та скорочення строків перебування даної категорії хворих в стаціонарі.

Особистий внесок здобувача

Автор самостійно провела інформаційний пошук та аналіз наукової літератури за темою дисертації, підготувала аналітичний огляд літератури з проблеми дослідження. Формулювання мети, завдань, висновків та практичних рекомендацій проводилось разом із керівником дисертаційної роботи. Здобувач здійснила ретроспективний аналіз клінічного матеріалу з історій хвороб, які зберігаються в архіві ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», біохімічних та морфологічних показників гомеостазу. Здобувач брала участь у лікуванні хворих з використанням фотодинамічної терапії на фоні променевої терапії, у виконанні експериментальних робіт з лабораторними тваринами. Автор проводила обробку отриманих первинних даних за консультативною допомогою наукового керівника. У спільних публікаціях з іншими дослідниками автору належать частини, що стосуються теми дисертації.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на:

1. Pushkar E, Krasnoselskiy N, Sklyar N, Simonova-Pushkar L, Sarkis-Ivanova V, Zavadzka T. Evaluation of the effectiveness of the treatment of infected radiation skin lesions using photodynamic therapy in the experiment. The Eight International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2020). Virtual Conference. 2020, p. 113.

2. Вивчення ефективності фотодинамічної терапії та збагаченого тромбоцитами фібрину у комплексному лікуванні інфікованих *Staphylococcus aureus* променевиx виразок шкіри в експерименті. В: Мікробіологічні читання пам'яті професора Юрія Леонідовича Волянського. Матеріали науково-практичної конференції. Харків; 2020, с.135-136.

3. Krasnoselskyi MV, Pushkar ES, Myroshnychenko MS, Simonova-Pushkar LI. Therapy Effect on the Healing Processes of Staphylococcus Aureus Radiation Ulcers of the Skin with Underlying Soft tissues. In: Photodynamic therapy and photodiagnosis update 2020. E-congress (November 5-6, 2020 Nancy, France, Munich, Germany).

4. Myroshnychenko MS, Krasnoselskyi MV, Pushkar ES, Simonova LI. Apoptosis and proliferation in uninfected and infected *Staphylococcus aureus* radiation skin ulcer. Belgian Week of Pathology. 2021, p. 72.

5. Сімонова-Пушкар ЛІ, Гертман ВЗ, Пушкар ОС. Вплив різних схем фотомодуляції на рівень ендогенної інтоксикації у хворих на рак молочної залози під час променевої терапії. Застосування лазерів у медицині та біології. Матеріали XLVIII міжн. наук.-практ. конф. Харків; 2018, с. 21-24.

Публікації

За темою дисертації опубліковано 4 наукові праці, з них: 1 стаття у фахових виданнях України, у тому числі 3 статті, які індексуються у науково-метричній базі Scopus. Опубліковано 5 тез конференцій, кожен з міжнародною участю.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація викладена українською мовою обсягом 193 сторінок, ілюстрована 22 рисунками та 7 фото, містить 18 таблиць та 9 додатків. Складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власного дослідження, їх аналізу та узагальнення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, який містить 192 джерела (37 кирилицею, 155 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Онкологічна патологія є основною соціальною проблемою, проблемою охорони здоров'я та економічною проблемою ХХІ ст. Рак є причиною трьох з 10 передчасних смертей від неінфекційних захворювань у світі (30,3 % у віці 30–69 років) [25]. Крім того, рак є важливою перешкодою для збільшення тривалості життя та пов'язаний зі значними соціальними та макроекономічними витратами [26]. Одне з нещодавніх досліджень проілюструвало глибокий вплив непропорційної смертності від раку у жінок: за інформацією, у 2020 р. майже мільйон дітей стали сиротами через те, що їхні матері померли від раку, причому майже половина із цих сиріт втратили матерів через рак молочної залози або шийки матки [27].

В Україні онкологічні захворювання займають п'яте місце в структурі захворюваності та друге в структурі причин смертності. За останні десятиліття кількість захворілих на деякі види раку збільшилася з 2,0 % до 30,0 % [28]. Така невтішна статистика спонукає до пошуку нових та вдосконалення чинних підходів до лікування онкологічних хворих.

Променева терапія (ПТ) є провідним методом лікування онкологічних захворювань. Зазначений метод є складовою комплексного лікування. Сутність ПТ полягає у використанні опромінення в доволі високих дозах, що підвищує ефективність лікування, збільшуючи кількість пацієнтів із виживаністю п'ять і більше років. З іншого боку, число пацієнтів із несприятливими наслідками лікування, особливо з променевими ускладненнями на пізній стадії, збільшується [29].

Нині у світі, за інформацією деяких дослідників, у приблизно 5 % пацієнтів, які перенесли ПТ, виникають частота променевої ушкодження, за іншими даними, ця цифра перевищує 10–15 % [30, 31]. Попри появу нових високотехнологічних методів ПТ, визначення оптимальних термінів і доз

опромінення, розроблення методів захисту навколишніх тканин, проблема зниження частоти та тяжкості променевиx уражень шкіри залишається актуальною. Особливої уваги потребують місцеві променеві ушкодження (МПУ) через агресивний перебіг і торпідність до медикаментозної терапії [32]. У патогенезі МПУ зазначають порушенням мікроциркуляції та пригнічення репаративних процесів унаслідок впливу випромінювання на клітини. Надалі приєднання інфекції спричиняє погіршення процесів загоювання пошкоджених тканин, що ускладнює застосування хірургічного лікування, та погіршуючи реабілітацію та негативно впливаючи на якість життя онкологічних хворих [33]. Задовільний результат лікування основного захворювання не означає повного одужання. Зважаючи на те, що більшість пацієнтів, які отримують ПТ, є працездатного віку, проблема лікування МПУ має соціальне значення та вимагає пошук ефективних методів лікування [34].

ПТ застосовують для ефективного лікування злоякісних пухлин. Проте радіація не тільки вбиває пухлинні клітини, але й чинить потужний руйнівний вплив на клітини нормальних тканин у полі опромінення. Під час променевої терапії на пацієнта певною мірою впливає широкий діапазон доз опромінення, різні види випромінювання, енергія випромінювання, час опромінення та курс лікування загалом. У пацієнтів, які пройшли променеву терапію, можуть виникнути різні пошкодження шкіри, що залежить від віку, фізичного стану, типу шкіри хворого, а також місця і тривалості опромінення. Численні передові технології ПТ пухлин швидко розвиваються і поступово застосовуються в клініках. Попри зростаючу точність променевої терапії, нормальні тканини все ще неминуче піддаються опроміненню. МПУ виникають унаслідок ядерних радіаційних аварій, ПТ пухлин і професійного опромінення. При променевій терапії пухлин частота виникнення МПУ також поступово зростає, і майже 85 %-95 % пацієнтів із пухлинами мають різні ступені пошкодження шкіри, пов'язані з ПТ. Відповідно, якість життя серйозно погіршується, на пацієнта чиниться величезний психологічний та економічний тиск, у той час, як ПТ, а отже, і лікування, переривається [35].

Загалом, МПУ поділяються на два типи: гострі та хронічні. Гострі МПУ відзначаються сухою та вологою десквамацією, некрозом шкіри, виразками, а також кровотечами [36]. До хронічних МПУ належать хронічні виразки, радіаційно-індукований кератоз, телеангіектазії, фіброз, а також рак шкіри [37].

У порівнянні з ушкодженнями шкіри, спричиненими іншими чинниками, МПУ характеризується інкубаційним періодом, прогресуванням і персистенцією. На відміну від звичайних опіків та виразок, радіація безпосередньо пошкоджує шкіру, а також клітини її глибоких тканин, спричиняючи сухість, втрату еластичності, пігментацію, фіброз м'яких тканин, розширення капілярів та променевий дерматит в опромінених ділянках. Крім того, незворотно пошкоджуються клітини ендотелію мікросудин і дрібних кровоносних судин у тканинах шкіри. Як наслідок, пошкоджена шкіра пацієнтів довго не загоюється і стає вразливою до інфекцій. Згодом ураження переростає у фіброз шкірної тканини й навіть стає раковим, що значно погіршує якість життя пацієнтів [2].

1.1 Патогенез уражень шкіри внаслідок променевої терапії

Еритема та десквамація, які виникають короткочасно, а також хронічна атрофія шкіри, виразки, телеангіектазії та фіброз є патофізіологічними варіаціями МПУ [24].

Прогресуючий ендометрит виникає через поступову оклюзію мікросудин та гіпоксію, спричинену фіброзом. Загоєння ран в освітленій ділянці сповільнюється через порушення природного процесу загоєння. Променевий фіброз є шкідливим хронічним захворюванням, яке з'являється через тижні або роки після опромінення [7]. Променевий фіброз є незворотнім процесом, який значно погіршує прогрес ПТ та знижує якість життя пацієнтів [38]. J.A. Pandya et al. [39] протестували зразки 27 пацієнтів із плоскоклітинним раком ротової порожнини, які пройшли ПТ щелепи та шиї.

Вони повідомили про значну атрофію тканин і атипову гіперплазію, посилення фіброзно-ексудативного некрозу, потовщення стінок кровоносних судин, а також розширення ротогорла слинних залоз. Мало того, для тих самих пацієнтів щільний фіброз із товстими волокнами зазвичай ідентифікували в пострадіаційних тканинах. Дослідники дійшли висновку, що подібні знахідки в інших місцях були зумовлені збільшенням фіброзу тканин і гіпоксією для пошкодження мікросудин. Так само були пошкоджені залози в дермі. Згадані результати ще раз підтвердили характеристики мікросудинного тромбозу та фіброзу тканин кінцевої виразки, пов'язані зі змінами шкіри після опромінення [40].

Радіаційний фіброз - це складна реакція, яка включає кілька етапів. Він складається із запалення, проліферації та ремоделювання. Це ненормальний процес загоєння ран, який пояснюється дисбалансом прозапальних і профіброзних цитокінів [41]. Збільшення сполучної тканини спричиняє фіброз і призводить до дисфункції органів [42]. Міофібробласти, отримані з фібробластів, критично впливають на розвиток фіброзу шляхом безперервного синтезу позаклітинного матриксу і секреції колагену I типу та α -гладкам'язового актину. Полегшений синтез і відкладення позаклітинного матриксу та накопичення фібробластів вважаються характеристиками фіброзу шкіри. Кілька механізмів беруть участь у фіброзі шкіри, включаючи диференціацію фібробластів, епітеліально-мезенхімальний перехід і рекрутинг лейкоцитів [42, 43].

Відновлення пошкодження тканини та подальший фіброз залучають численні молекули та сигнальні шляхи (наприклад, трансформуючий фактор росту (TGF)- β та Wnt/ β -катенін) [44]. TGF- β діє як явний збудник фіброзу. Індукований радіацією TGF- β експресується в тканинах шкіри залежно від дози радіації [45]. TGF- β поєднується зі своїм рецептором для утворення тримерного комплексу, що викликає фіброз тканин [46]. Шлях TGF- β /Smad є важливим сигнальним шляхом, залученим до фіброзу шкіри. Активованій білок Smad призводить до транслокації ядра, активує специфічну

транскрипцію та запускає фіброз у ядрі [42]. Активований TGF- β регулює фіброзні цільові гени шляхом фосфорилування білків Smad2/Smad3. Сигнальний шлях TGF- β виступає як терапевтична мішень для радіаційного фіброзу [48]. Іонізуюче випромінювання діє на клітини шкіри, викликаючи апоптоз і генеруючи вільні радикали та активні форми кисню, головним чином викликаючи пошкодження шкіри. Сигнальний шлях Wnt/ β -катеніну життєво важливий для фізіологічних процесів раннього ембріонального розвитку, формування органів і регенерації тканин у тварин. Мутації в життєво важливих білках у цьому сигнальному шляху можуть спричинити аномальну трансдукцію сигналу, викликаючи аномальний розвиток або регенерацію тканини [49].

Шкірний жир є основним будівельним матеріалом шкіри людини. Ліпіди шкіри виконують радіопротекторну роль. Радіація модулює метаболізм ліпідів шкіри шляхом зниження регуляції багатьох шляхів. Це також зменшує кількість шкірного жиру та коливання ліпідного обміну. Зрілі адипоцити сприяють міграції спільно культивованих кератиноцитів і фібробластів, але не сприяють їхній проліферації. Білок 4, що зв'язує жирну кислоту, може бути включений у клітини шкіри та сприяти відновленню пошкоджень ДНК в опромінених фібробластах шкіри. Радіація індукує ремоделювання ліпідів шкіри, а жирові клітини шкіри мають захисну дію на спричинене радіацією пошкодження шкіри [50].

Пошкодження шкіри, викликане радіацією, виявляється хронічним запальним станом і збільшенням синтезу АФК. Іонізуюче випромінювання сприяє синтезу активних форм азоту та кисню (RNS/ROS) для радіолізу води [51]. Ця реакція може спричинити окисне пошкодження та цитотоксичність, викликаючи тим самим гостре або хронічне пошкодження шкіри. Використання антиоксидантів може зменшити шкоду, пов'язану з радіацією [52]. Наприклад, супероксиддисмутаза та її міметики знижують рівень ROS та RSI.

Рідко відомо про основні механізми, за допомогою яких радіація генерує та посилює АФК. Оксид азоту (NO) має вирішальне значення для гомеостазу

функціонування шкіри та став мішенню для лікування специфічних шкірних захворювань [53]. У ссавців NO синтезується L-аргініном, NADPH, а також NO-синтазою (NOS) в кисні. Ізоформи NOS ідентифікуються в шкірі, а 5,6,7,8-тетрагідробіоптерин (BH₄) діє як важливий кофактор для NOS [54]. Синтез АФК може перешкоджати використанню BH₄ для окислення BH₄ до дигідробіоптерину (BH₂). Відповідно, може бути викликано роз'єднання NOS, і може бути полегшений синтез окислювальних супероксидних радикалів [55]. Інгібування GCH1 *in vivo* збільшує окислювальний стрес і знижує кількість лейкоцитів після опромінення [56]. Радіація руйнує BH₄, тим самим посилюючи реакцію каскаду АФК. GCH1 відроджує рівні BH₄ і синтез ROS [57, 58].

Іонізуюче випромінювання здатне впливати на клітини G2- і M-фази клітинного циклу, викликаючи тим самим апоптоз і порушення проліферації та міграції клітин. Внаслідок цього відбувається загальне виснаження клітин. Іонізуюче випромінювання може пошкодити колагенові структури. В опромінених ранах пригнічується проліферація клітин. Збільшення матричних металопротеїназ, спричиняє аномальну деградацію позаклітинного матриксу. При зниженому ангиогенезі та підвищеному рівні трансформуючого фактора росту- β (TGF- β) кровоносні судини демонструють варіації, що спричиняє посилення ендотеліального фіброзу; подальша оклюзія просвіту судин викликає гіпоксію тканин. Низький рівень експресії гена *Ras*, що інгібує апоптоз, і надмірна експресія генів, що індукують апоптоз, *p35* та інших, що пояснюється радіацією під час ПТ, викликає надмірний апоптоз в організмах пацієнтів; таким чином, їх шкіра пошкоджується [59]. Сучасні дослідження показали, що під час ПТ утворюється значна радіація, а активні форми кисню та вільні радикали, що утворюються в результаті випромінювання, можуть серйозно пошкодити базальні клітини людського тіла. Крім того, радіація пригнічує поділ базальних клітин і міграцію функції кератинізації, викликаючи МПУ у пацієнтів, які отримували ПТ [60].

Радіація також може викликати зниження рівня експресії ангіогенних факторів. Вона підвищує рівень експресії прозапальних цитокінів IL-1, IFN- γ , TNF- α та IL-6, запобігає відкладенню колагену та індукує експресію TGF-beta1 шляхом активації макрофагів/стромальних клітин. Підвищений рівень TGF-beta1 розщеплює колаген і стимулює мікросудинні зміни [61, 62].

Неоваскуляризація вимагає передачі сигналу через сімейство васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) [63]. VEGF є маркером неоваскуляризації. Експериментальні дослідження показали, що після опромінення 10 Гр синтез ангіогенного фактора VEGF у крові щурів-носіїв пухлини був значно утруднений [64]. Низькі рівні VEGF після променевої терапії вказують на те, що цілеспрямоване лікування VEGF покращує відновлення судин. Доклінічні дослідження підтвердили це, показавши, що опромінений сечовий міхур щурів, яким вводили VEGF, призвели до помітного зменшення фіброзної тканини та посилення тканинного ангіогенезу [65].

1.2 Клінічні вияви променевих ушкоджень шкіри

МПУ часто оцінюють як ранні та пізні за класифікацією Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (1995 р.) [66]. Так, МПУ розрізняють за 5 ступенями: 0 – відсутність побічних явищ ПТ; 1 — незначно виражені ускладнення; 2 — помірно виражені ускладнення; 3 — виражена реакція; 4 — небезпечні для життя ускладнення; 5 — смерть внаслідок ускладнень ПТ.

Ранні променеві ушкодження включають ранні променеві реакції, що виникають під час ПТ, та ранні променеві ушкодження, що виникають у перші 3 місяці після ПТ. Ранніми променевими ушкодженнями є променева алопеція, гострий променевий дерматит та гострий некротичний променевий дерматит.

Променеві ушкодження на пізній стадії зазвичай виникають через 3 місяці або навіть роки після ПТ. Вони виявляються атрофією шкіри різного ступеня, пігментацією, стійкою алопецією, фіброзом і виразками, а також

хронічним променеви́м дерматитом, склерозуючи́м променеви́м набряком, склерозом і променеви́м раком шкіри [67–69].

Місцеве променеве пошкодження покривних тканин на пізній стадії спостерігається у 5% пацієнтів, які отримували ПТ [70]. Найбільше значення при розвитку пізніх МПУ покривних тканин має величина одиничних і загальних поглинених доз іонізуючого випромінювання, ритм опромінення і, що найбільш важливо, джерело випромінювання [71].

За інформацією дослідників ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», захворюваність МПУ становить 6%, але ці дані не мають достовірної точності, оскільки велика кількість пацієнтів з МПУ не звертаються за допомогою до спеціалізованих установ.

На думку фахівців, класифікація виникнення МПУ за термінами виникнення променевих ушкоджень базується на патоморфологічних даних [72]. Ранні МПУ спричинені перевищенням толерантності опромінених тканин, з високим рівнем проліферативної активності та індивідуальної радіочутливості. Такими тканинами є шкіра, кістковий мозок, епітелій кишківника та яєчка. Тяжкість ранніх МПУ залежить від величини поглиненої дози, розмірами поля поглинання променів, методами захисту тканин тощо [73].

На патогенез пізніх МПУ впливає ураження генетичного апарата клітин радіорезистентних тканин та органів, які відзначаються низькою проліферативною активністю. Це ендотелій судин, м'язи, печінка, нервова та кісткова тканини. Зазвичай у зазначених тканинах не зазначають ознак уражень від ПТ ні в ранні, ні в більш пізні терміни. Проте ураження генетичного апарату неактивних клітин спричиняє появу нежиттєздатних клітин, що у разі асептичного васкуліту, склерозу тканин, облітерації та тромбозу судин, остеопорозу, пізніх променевих виразок, малігнізації призводить до незворотних змін. До того ж у патогенезі пізніх МПУ шкіри

деяку роль мають нелетальні форми ураження геному та різні типи радіаційного ураження клітин епігеномного походження [74].

Клінічні вияви та перебіг МПУ зумовлені величиною та розподілом у часі дози іонізуючої радіації — сумарною поглиненою дозою (СПД). Також значення мають толерантність і чутливість тканин до радіоактивного опромінення. Так, МПУ можуть виникнути при одноразовому опроміненні тканин при СВД 12–15 Гр і не виникнути в разі пролонгованого фракційного опромінення з разовою дозою у 2–4 Грей (Гр) і СВД 40–60 Гр. Проте є винятки: підвищена чутливість у хворого тканин до іонізуючої радіації [75].

Клінічні вияви пізніх МПУ шкіри відзначаються тривалістю та торпідністю перебігу [76, 77]. Так, у разі атрофії шкіра стає тонкою, сухою, з острівцями гіперкератозу, тріщинками та поверхневою ерозією. Через 4–6 місяців після ПТ виникають хронічний індуративний набряк та фіброз шкіри, унаслідок чого шкіра поступово потовщується, підшкірна клітковина стає щільною, побідною до дерева, виникає болючість під час пальпації. Лімфостаз та фіброз шкіри й підшкірної жирової клітковини є основними патогенетичними факторами. Якщо індуративний набряк локалізується біля великих кровоносних судин та нервових стволів, то дистальніше рівня ушкодження виникають виражені порушення кровообігу та лімфотоку, а також патологічна неврологічна симптоматика [78–80].

Пізні променеві виразки утворюються в центрі атрофічного або гіпертрофічного дерматиту та поширюються вздовж периферії, поглиблюють патологічне вогнище та спричиняють виникнення некрозу всіх тканин, які зазнали опромінення. Клінічний перебіг пізніх променевих виразок відзначається торпідністю, запалення тканин є незначним, відторгнення некротичних мас відбувається повільно. Загоєння таких ран триває роками, через пізню грануляцію та епітелізацію [81, 82].

Фіброз є пізнім ефектом іонізуючої радіаційної терапії, який значно знижує якість життя пацієнтів. Радіаційно-індукований фіброз може виникнути через 4–12 місяців після ПТ у шкірі, підшкірній клітковині та інших

органах, які зазнали впливу опромінення (доза опромінення > 50 Гр). Патогенетичний механізм радіаційно-індукованого фіброзу подібний до процесу загоєння ран. Іонізуюче випромінювання викликає пошкодження ДНК і індукує утворення активних форм кисню та азоту, стимулюючи запальні та фіброзні процеси. Фібробласти та міофібробласти виробляють колаген, фібронектин і протеоглікани, що призводить до збільшення потовщення тканини, зниження податливості тканини та функціональних змін [83]. Трансформуючий фактор росту бета ($TGF\beta$) є поширеним фактором росту, який опосередковує фіброзну відповідь.

Клінічна картина радіаційно-індукованого фіброзу шкіри може характеризуватися ущільненням і втягненням шкіри, лімфедемою, обмеженням рухів, некрозом і виразкою. Місцеві та пероральні препарати, фізіотерапія є сучасними варіантами лікування цієї патології. Механічний масаж ураженої ділянки може ефективно протидіяти фіброзу тканин, зменшуючи біль, свербіж і потовщення шкіри. Пероральний прийом антиоксидантів, таких як альфа-токоферол (вітамін Е), може допомогти захистити клітини від пошкодження ДНК, викликаного радіацією. Подібним чином пентоксифілін, гемореологічний засіб, може ефективно пригнічувати проліферацію фібробластів [81]. Інші терапевтичні засоби для лікування радіаційно-індукованого фіброзу включають гіпербаричну кисневу терапію, супероксиддисмутазу, $IFN\gamma$, лазерну терапію з епідермальною трансплантацією [83].

Радіаційний дерматит — це маловивчене та рідкісне явище, яке відзначається появою гострої запальної реакції в ділянці, яка раніше була піддана опроміненню, викликаній введенням хіміотерапевтичного засобу або інших ліків [84]. Радіаційний дерматит вражає приблизно 6 % пацієнтів, які проходять ПТ, і в більшості випадків виникає, коли препарат застосовують через місяці або роки після опромінення. Цей стан зазвичай пов'язаний із дозою опромінення >20 Гр, а в деяких випадках нижче 20 Гр. Патогенез цього шкірного явища невідомий, але були запропоновані різні теорії, включаючи

гіпотези щодо змін у стовбурових клітинах в опроміненій зоні, пошкодження клітинної ДНК та окисного стресу, а також ідіосинкратичні реакції гіперчутливості на лікарські засоби [85].

Типові клінічні вияви радіаційного дерматиту зазвичай виникають через тижні після впливу тригерного препарату, іноді під час або одразу після внутрішньовенного введення. Клінічно вияви радіаційного дерматиту змінюються залежно від ступеня тяжкості та можуть виявлятися легким висипанням, сухою десквамацією, свербіжем, набряком, набряком, утворенням пухирів, плямисто-папульозними висипками, виразками та некрозом шкіри у важких випадках [86].

Хіміотерапевтичні засоби, що належать до різних класів, можуть бути відповідальними за запуск цієї шкірної реакції, включаючи таксани, алкілюючі агенти, антрацикліни, антиметаболіти, алкалоїди барвінку, інгібітори EGFR, інгібітори тирозинкінази BRAF. Незрозуміло, чи пов'язаний радіаційний дерматит зі схемою або дозуванням хіміотерапевтичного засобу. Крім того, нехіміотерапевтичні засоби можуть бути причетні до виникнення радіаційного дерматиту, наприклад протимікробні/антибактеріальні засоби, нестероїдні протизапальні засоби, гіполіпідемічні засоби, протитуберкульозні препарати [87]. Повідомлялося про випадок радіаційного дерматиту, викликаного ацикловіром, у жінки, яка отримувала ПТ внутрішньопротокової карциноми *in situ* [88].

Роль радіації в сприянні розвитку раку шкіри відома вже давно. Базальноклітинна карцинома (ББК) є найчастішою радіаційно-індукованою пухлиною шкіри. ББК характеризується повільним ростом і рідко дає метастази [89]. Методи лікування цього типу раку шкіри залежать від локалізації, розміру та типу ураження. Різні терапевтичні варіанти включають стандартне хірургічне висічення, мікрографічну хірургію за Моосом, опромінення, електродесикацію та кюретаж, фотодинамічну терапію, кріохірургію, місцеву терапію та системні препарати [90, 91]. Загалом, латентний період ББК може становити від 2 до 70 років і після дози

опромінення до 30 Гр [92]. Основними факторами ризику радіаційно-індукованого БКК є додаткове перебування на сонці, чутлива до сонця шкіра, вплив радіації до 20 років, етнічна приналежність, генетичні фактори [93].

Латентний період виникнення БКК після променевої терапії становить приблизно 20 років. Радіодерматит часто передує діагностиці радіаційно-індукованого БКК [94]. Радіаційно-індуковані БКК зазвичай більш агресивні, ніж ті, що пов'язані з ультрафіолетовим випромінюванням, і зазвичай мають погано визначені поля. Дослідження M. J. Edward et al. показали, що радіаційно-індуковані БКК були пов'язані з 5-річною виживаністю 50 %, порівняно з 90 % для БКК, пов'язаних з ультрафіолетом [95].

Також повідомлялося про проліферацію судин, спричинену радіацією, зокрема, атипіві судинні ураження та шкірні ангіосаркоми. Ангіосаркоми були описані після ПТ карцином молочної залози, яєчників, шийки матки, вульви, ендометрію, крайньої плоті, неходжкінських лімфом і доброякісних захворювань [96]. Шкірні ангіосаркоми, спричинені радіацією, є агресивними судинними пухлинами, які зазвичай виникають через 5–6 років після променевої терапії (доза опромінення > 30 Гр) і характеризуються поганим прогнозом; середній час виживання після встановлення діагнозу коливається від 10,8 до 33,5 місяців [97]. Ці злоякісні новоутворення проявляються у вигляді червоних/фіолетових бляшок або вузликів з ексхімотичним виглядом. Лікування передбачає велике хірургічне висічення, зважаючи на високу частоту місцевих рецидивів. Тривале спостереження є важливим, оскільки індуковані радіацією ангіосаркоми можуть виникнути після 5 років онкологічного спостереження [98].

У 50 % хворих із термінами захворювання понад 6 місяців виникають болісні відчуття різного ступеня інтенсивності в місці МПУ. Часто в ділянці променевого ушкодження зазначають нестерпний свербіж [38, 85]. У 20 % хворих трапляється некласична реакція на медикаменти, зокрема, йод, креол, місцеві антибактеріальні препарати [99, 100].

Учені виявили суттєву залежність клінічного перебігу, прогнозу та результатів захворювання від локалізації виразки та підлеглих тканин [101–103]. Більш сприятливий прогноз результату захворювання в разі, коли підлегли тканини це м'язи та підшкірна жирова клітковина, несприятливий прогноз, якщо підлегли тканини є сухожилками та кістковою тканиною. Поєднання МПУ покривних тканин та внутрішніх органів відзначається більш тяжким клінічним перебігом [3, 104].

Згідно із сучасними дослідженнями, консервативне лікування МПУ є ефективним тільки у 50–60 % пацієнтів. Однак рубці, що утворюються на місці променевої виразки, не є повними, їх нелегко пошкодити, що призводить до рецидиву [3, 105].

Отже, МПУ є серйозною проблем як для пацієнтів, які вилікували основне захворювання, а медикаментозна терапія часто є неефективною в разі лікування цієї патології.

1.3 Застосування фотодинамічної терапії у лікуванні онкологічної патології

Фотодинамічна терапія є сучасним перспективним методом лікування як онкологічних, так і неонкологічних захворювань [8–11].

Кількість публікацій у цій галузі збільшується лавиноподібно з кожним роком в усьому світу. ФДТ поєднує в собі елементи радіологічного методу, оскільки містить як обов'язковий компонент, джерело неіонізуючого випромінювання, та хіміотерапії — унаслідок використання фотосенсибілізаторів.

Ера становлення та розвитку ФДТ почалася ще на початку 20 ст., коли було відкрито властивості деяких речовин, які назвали фотосенсибілізаторами, що флуоресціювали за наявності видимого світла. Сам термін «фотодинамічна дія» був запропонований директором Інституту фармакології Мюнхенського університету, професором Г. Таппайнером ще в 1904 р. Приблизно тоді ж було

встановлено, що збуджені світлом фотосенсибілізатори здатні пошкоджувати або вбивати різні мікроорганізми та деякі клітини. Саме ці явища згодом використали в медицині.

У перші десятиріччя свого розвитку метод ФДТ застосовувався переважно в онкології, але в останні роки він вийшов за ці межі та поширюється в багатьох напрямків медицини.

Відповідно до сучасних наукових уявлень, ФДТ переважно вважається методом активації фотосенсибілізатора лазерним випромінюванням, яке накопичується в осередку ушкодження з подальшим розвитком фотохімічних реакцій у клітині. Загалом механізм ФДТ може бути представлений у такий спосіб: молекула фотосенсибілізатора поглинає квант світла й переходить у збуджений триплетний стан, енергія якого переходить на внутрішньоклітинні дисоційовані молекули води з утворенням молекулярного синглетного кисню. Синглетний кисень (потужний окиснювач) вступає в хімічні реакції з біологічними структурами, зокрема, запускає реакцію перекисного окиснення ліпідів. Оскільки всі мембранні структури клітини мають ліпопротеїнову природу, то фотосенсибілізатор, що накопичився в патологічній тканині та під впливом дії світла, призвів до фотохімічної реакції та став універсальним пошкоджувальним агентом, як усередині клітини, так і поза неї. Накопичення вільних радикалів у процесі розгортання оксидативних реакцій справляє додаткову вторинну ушкоджуючу дію на клітини [106, 107].

Отже, основним напрямом застосування ФДТ є знищення небажаних клітин та тканин, насамперед пухлинних. Тому ФДТ, як метод лікування, досить довгий час застосовувався майже виключно в онкології. На сьогодні найбільш поширеним є застосування ФДТ для знищення пухлин, розташованих поверхнево, переважно шкірних, або пухлин, до яких можна підвести світловод. Але нині галузь застосування ФДТ значно поширюється і на це є свої важливі причини.

Із самого початку розвитку ФДТ стало зрозуміло, що за допомогою цього методу можна знищувати будь-які клітини, зокрема, бактеріальні чи

інші інфекційні агенти. Але актуальною ця проблема стала лише в наш час, коли втрачають ефективність більшість антибактеріальних препаратів насамперед антибіотики. Саме поширеність антибіотикорезистентної мікрофлори зумовлює пошук інших, немедикаментозних методів боротьби з інфекціями, й тому, метод ФДТ починає займати все більш важливе місце.

На цей момент найбільш поширеним поза межами онкології є використання ФДТ для лікування гострих та хронічних тканинних пошкоджень, зокрема, лікування інфікованих дефектів шкіри та м'яких тканин, таких як пролежні, рани, що довго не загоюються, трофічні виразки різної етіології, у тому числі діабетичні [108–113]. Трофічні виразки та рани, які тривало не загоюються, розвиваються внаслідок травматизації, а також як ускладнення багатьох захворювань — цукрового діабету, венозної недостатності, тромбозів, облітеруючого атеросклерозу тощо. Треба зазначити, що дуже поширені хронічні діабетичні та венозні виразки погано піддаються лікуванню традиційними методами (хірургічна обробка, антибіотики, ранозагоюючі препарати тощо [114–117]). Проблему їхнього лікування практично завжди ускладнює наявність ранової інфекції, бактеріальної чи мікотичної, що заважає репарації ран та виразок. Лікування подібних інфікованих ушкоджень шкіри і м'яких тканин значно ускладнюється появою все більшої кількості антибіотикостійких штамів мікроорганізмів [14]. У досить численних експериментальних дослідженнях на бактеріальних культурах та інфікованих ранах тварин науковці довели, що ФДТ може знищувати багато видів патогенних мікроорганізмів, зокрема, такий небезпечний, як *Staphylococcus aureus* [8, 118, 119]. Було показано, що ефективність ФДТ не має залежності від чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, не викликає в цих патогенів звикання та стійкості до складових методу. Зокрема ФДТ не чинить системної дії на нормальну мікрофлору організму. На сьогодні в багатьох країнах проводяться численні експериментальні дослідження зі створення та випробування різноманітних фотосенсибілізаторів, таргетних до певних мікробних клітин. Розробляються

вимоги до спектральних характеристик світла з різних джерел. Створюються нові світло-випромінювальні прилади, зокрема, з використанням світлодіодів, які можуть замінити більш високовартісні лазери.

На підставі отриманих експериментальних результатів та в деяких клінічних дослідженнях почалося випробування ФДТ як локального антибактеріального методу для очищення гнійних ран та виразок, а також стимуляції їхнього загоювання. В основному для цього користуються лазерними апаратами та різноманітними фотосенсибілізаторами, переважно з асептичними якостями. Так, у дослідженні у хворих з інфікованими посттравматичними ранами та трофічними виразками нижніх кінцівок використовували лазерне випромінювання та, як фотосенсибілізатор, препарат хлорофіліпт. Показано очищення ранових дефектів від патогенної мікробної флори, значне прискорення їхнього загоєння, зменшення частоти ускладнень та створення сприятливих умов для шкірної пластики. Високу ефективність лікування гнійних ран м'яких тканин різної локалізації продемонструвало використання лазера та фотосенсибілізатора хлоринового ряду. У цьому дослідженні ФДТ призводила до швидкого очищення рани від інфекції та прискорення епітелізації, що майже вдвічі скоротило терміни загоєння ран [120, 121]. У Великій Британії вже накопичено великий досвід лікування діабетичних виразок стопи за допомогою ФДТ [122, 123]. Статистично доведено, що у хворих, які отримували ФДТ, вдвічі знижується бактеріальне навантаження невдовзі після сеансу лікування та прискорюється загоєння пошкодження [124–130].

Отже, на сьогодні метод ФДТ уже застосовують тисячі вчених та практикуючих лікарів всього світу. Треба зазначити, що, хоч ФДТ нині вже увійшла до арсеналу методів лікування багатьох захворювань, її широке застосування ще стримується високою вартістю багатьох фотосенсибілізаторів та лазерної апаратури.

Проте для реалізації фотодинамічної дії можуть використовуватися терапевтичні апарати і прилади на основі не тільки лазерних, але й більш

дешевих світлодіодних джерел. Головною вимогою при конструюванні нових джерел світла є вимога відповідності спектра поглинання фотосенсибілізатора спектру випромінювання лазерного або світлодіодного джерела.

Загалом до переваг ФДТ як традиційного методу лікування можна віднести те, що цей метод є менш інвазійним у порівнянні з хірургічним та не має тривалих побічних ефектів. ФДТ чинить вибірково дію на тканини та клітини з максимальним збереженням навколишніх здорових тканин, дає можливість багаторазового повторення впливу для отримання результатів на відміну від дії іонізуючої радіації. При лікуванні шкірних дефектів перевагою є відсутність келоїдних рубців та шрамів після загоєння ушкодженої ділянки, що забезпечує відмінні косметичні результати.

Інтенсивно проводяться дослідження з оптимізації чинних схем лікування різних видів патології. Зокрема таких, як комбінація ФДТ із хірургічними методами або інтерстиціальне лікування з можливістю використання ФДТ для патологічних об'єктів, які глибоко розташовані.

1.4 Антибактеріальні ефекти фотодинамічної терапії

Антимікробна терапія завжди була постійною проблемою, особливо з огляду на резистентність, розвинену до різних антимікробних агентів і широкого спектра патогенів. Щорічно приблизно 700 000 життів у всьому світі втрачаються через інфекції, пов'язані зі стійкими до ліків патогенами [131]. Очікується, що до 2050 р. кількість смертей, пов'язаних зі стійкими до ліків патогенами, зросте до 10 млн людей на рік [132]. Для боротьби з резистентністю, пов'язаною з мікробними інфекціями, розробляється та вдосконалюється низка нових антимікробних схем. Однак розвиток резистентності до протимікробних препаратів відбувається за допомогою різних механізмів, які включають потовщення зовнішньої стінки, кодування нових білків, які перешкоджають проникненню ліків, і появу мутантів з дефіцитом тих поринових каналів, які дозволяють надходження чужорідних

хімічних речовин. Резистентність до антимікробних препаратів поступово погіршує результати лікування. Необхідно культивувати альтернативний підхід, який виключає розвиток антимікробної стійкості [133].

Фотодинамічна терапія вважається багатообіцяльною стратегією для зменшення резистентності, пов'язаної з мікробними інфекціями. ФДТ спочатку була розроблена для лікування раку та отримала схвалення в кількох країнах [134, 135].

Метод заснований на використанні фотосенсибілізатора (ФС), локалізованого в певних клітинах, який може бути активований малими дозами видимого світла відповідної довжини хвилі. Активація ФС генерує синглетний кисень і вільні радикали, які є цитотоксичними для клітин-мішеней [136, 137]. ФДТ також використовується в антимікробній терапії, оскільки розвиток резистентності бактерій до синглетнего кисню та вільних радикалів дуже мало ймовірний [138, 139]. Синглетний кисень має короткий період напіврозпаду, а дифузія синглетнего кисню обмежена кількома нанометрами; отже, цитотоксичність обмежена безпосередніми клітинами [140].

Нині проводяться клінічні випробування ФДТ, як антибактеріального методу для впровадження у рутинну медичну практику [141]. В більшості досліджень з вивчення ФДТ як антибактеріального методу для лікування дефектів шкіри та м'яких тканин користуються фотосенсибілізаторами з похідних амінолевулінової кислоти [142].

Треба зазначити, що особливою проблемою у лікуванні ран та виразок, які важко лікуються та довго не загоюються, є лікування пошкоджень шкіри та м'яких тканин, викликаних радіаційним чинником. Зазвичай, вони зустрічаються як побічні ефекти медичного опромінювання з діагностичною або лікувальною метою. Найчастіше променеві ураження виникають як ускладнення променевої терапії у зонах опромінення при лікуванні хворих на злоякісні новоутворення. Термін «місцеве радіаційне ушкодження» відноситься до морфологічних і функціональних змін у неракових тканинах, що викликаються прямою дією іонізуючої радіації [143, 144]. Хоча

виникнення більшості променевиx уражень в певному сенсі є наслідком онкологічного захворювання, їх лікування належить до сфери консервативного або хірургічного лікування. На цей час вже проводяться поки що нечисленні, переважно експериментальні, дослідження можливої ефективності ФДТ для лікування променевиx дефектів шкіри та м'яких тканин. Так, була показана ефективність ФДТ для лікування променевиx виразок шкіри в експерименті. Застосування ФДТ для лікування променевиx виразок шкіри у щурів значно прискорювало їх загоєння [22, 23]. Відомі спроби лікування цим методом радіоіндукованих оральних мукозитів та фарингітів, які часто виникають при променевій терапії пухлин голови та шиї [145–147]. Таким чином, ФДТ стає однією із найбільш перспективних методів лікування дефектів шкіри та слизових оболонок будь-якого походження.

ФДТ є дуже корисним методом не тільки для лікування тяжких ранових пошкоджень шкіри. ФДТ досить широко застосовується в дерматології для лікування звичайних поширених шкірних захворювань, в патогенезі яких певне місце посідає інфікування [148]. Наприклад, при *Acne vulgaris* відбувається інфікування шкірних залоз, яке успішно лікується за допомогою ФДТ з використанням різноманітних фотосенсибілізаторів та джерел світла [149, 150]. Також методом ФДТ успішно лікують псоріаз та нейродерміти з ускладненнями [151, 152]. Найбільш придатним є цей метод для лікування шкірних мікозів, збудниками яких є патогени з роду *Candida*, *Mycobacterium*, *Trichophyton* тощо [153]. Метод ФДТ також показав свою ефективність при комплексному лікуванні таких шкірних дефектів як келоїдні та інші рубці і шрами, для профілактики інфікування, зняття запалення та прискорення загоєння шкіри [154, 155].

Основу патогенезу променевого ушкодження шкіри складає гостре порушення мікроциркуляції з пригніченням репаративних можливостей тканини. За даними літератури, при лікуванні променевиx ушкоджень шкіри (променевиx виразок) використовували переважно медикаментозну терапію протизапальними засобами та препаратами, які прискорюють регенеративні

процеси [156]. Серед досліджень зустрічалися поодинокі спостереження з використанням фізичних методів лікування, зокрема, лазерне опромінення [157–159]. В останні роки відзначається удосконалення фізичних методів у лікуванні променевого ушкодження. Однак, попри значні досягнення, пошук схем ефективної профілактики ранніх та терапії пізніх ускладнень ПТ є залишаються актуальним. Аналіз доступної літератури виявив недостатню кількість досліджень їхньої ефективності та рекомендацій щодо застосування. У літературних джерелах також обговорюються питання щодо лікування та профілактики променевої реакції шкіри за умов ПТ, яка націлена на можливість проведення повного курсу променевого лікування [160–164]. Зважаючи на антибактеріальні ефекти ФДТ можна припустити, що застосування зазначеного методу можна застосувати для лікування уражень шкіри, спричинених променевою терапією.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводились в ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» в клінічному відділенні променевої терапії (акредитаційний сертифікат серія № 014402 від 25.04.2019 р., чинний до 24.02.2022 р.) та в атестованих підрозділах — Лабораторного центру наукових досліджень № 01-0011/2022 від 07.02.2022 року, свідоцтво чинне протягом трьох років з дати реєстрації; Центрі клінічних інструментальних досліджень № 01-0012/22 від 07.02.2022 р, свідоцтво чинне протягом трьох років з дати реєстрації.

Від пацієнтів отримано інформовану згоду на участь у дослідженні, яке проведено відповідно до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження» (1964–2013 рр.). Протокол засідання комісії з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна № 3 від 13 грудня 2023 року.

Мікробіологічні дослідження проводились у атестованих лабораторіях специфічної профілактики краплинних інфекцій і біохімії та біотехнології відділу мікробіології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України». Свідоцтво про атестацію за №100-089/2015, видане 30.04.2015 року і чинне до 29.04.2019 року засвідчує, що лабораторія специфічної профілактики краплинних інфекцій відповідає критеріям атестації й атестована на проведення вимірювань у сфері поширення державного метрологічного нагляду згідно з галуззю атестації, що наведена в додатку до свідоцтва і є невід'ємною його складовою частиною. ЛСПКІ має Дозвіл на роботу із збудниками III-IV груп патогенності за № 94-15, виданий обласною режимною комісією Головного

управління Держсанепідслужби у Харківській області, дозвіл чинний до 10.12.2018 року.

Морфологічні дослідження проводились на кафедрі патологічної анатомії ДУ «Харківській національній медичній університет МОЗ України».

Для визначення оптимальних параметрів світлового впливу на фотодинамічний ефект з урахуванням ступеню деконтамінації було проведено ряд досліджень *in vivo* та *in vitro*. Експерименти *in vivo* були проведені на лабораторних щурах, дослідження *in vitro* – на мікробних культурах золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*) у чашках Петрі.

2.1 Матеріали і методи клінічних досліджень

2.1.1 Дизайн клінічного дослідження

У межах дослідження було обстежено 26 жінок з діагнозом РГЗ (II – III стадії) віком 35–65 років. З них 16 жінок отримали фототерапію з метою профілактики розвитку променевого ушкодження шкіри (еритема, дерматит, десквамація та ін.) під час післяопераційного променевого лікування. Пацієнтки, включені до дослідження, мали підтверджений гістологічно діагноз раку грудної залози, а також радикальну мастектомію.

Всім хворим згідно з протоколом лікування онкологічного захворювання було призначено післяопераційну променеву терапію в режимі класичного фракціонування РВД 2 Гр x 20 фракцій (1 фракція на добу, 5 днів на тиждень) до СВД 40 Гр на над-, підключичну і парастермальну ділянки та післяопераційний рубець в умовах відділення променевої терапії ДУ ІМРО.

Усі пацієнтки були розподілені на 2 групи.

Перша група хворих – контрольна – складалася з 10 осіб, яким під час проведення післяопераційного курсу променевої терапії використовувались стандартні методи профілактики та лікування МПУ шкіри.

Друга група – основна група – 16 пацієнток, що отримували фотоманітну

терапію в період проведення післяопераційного курсу променевої терапії.

Вивчення дії фотомагнітної терапії на перебіг МПУ шкіри здійснювали з використанням фотонного матричного приладу «Барва-Флекс» та магнітної матриці. Ця установка містить кілька окремих матриць різного кольору у межах оптичного спектра. Окрема фотонна матриця являє собою гнучку пластину, на якій розташовані 24 світлодіоди відповідного кольору. Потужність випромінення кожного з них 5 мВт .

Магнітна матриця є пластиною розміром 120 x 80 x 5 мм, яка містить 24 кільцевих магніти з індукцією одного магніту 10 мТл; вона має 24 круглих отвори, які збігаються з 24 фотодіодами фотонної матриці.

У роботі використовувались два фізичних чинники. Перший чинник у вигляді «червоного» світла в оптичному діапазоні (630–660 нм) та синього (450–470 нм) який проникає на глибину 2,5 см з помірною енергією кванта 1,77 еВ. Це забезпечує стимуляцію репараційних процесів по всій глибині післяопераційної рани [169].

Для вивчення можливої профілактичної дії світлодіодів на розвиток МПУ фотонно-магнітний вплив починали незабаром після локального опромінення. Обробку фотомагнітними матрицями з фотодіодами червоного кольору проводили щодня паралельно з сеансами променевої терапії на зону дії іонізуючої радіації (ділянка післяопераційного рубця, над-,подключична та парастернальна ділянки). Досліди проводили при щільності дози фотовипромінювання 2 Дж/см², час фотовпливу 15 хв. Лабораторні дослідження починали на 14 день після закінчення повного курсу фототерапії.

Оцінку шкірних проявів проводили за 5-бальною системою Національного Інституту Раку США (NCI) [53]. Згідно з цією класифікацією є такі ступені тяжкості МПУ: 0 – відсутність ознак змін на шкірі; I – бліда еритема; II – від помірної до яскравої еритеми, волога десквамація; III – зливна волога десквамація; IV – некроз, укривання виразками. В процесі ПТ урахували інтенсивність проявів шкірних реакцій кожного ступеня.

Прояви шкірних реакції оцінювалися на етапах проведення променевої

терапії за 10-бальною шкалою.

2.1.2 Лабораторні методи

Методи визначення стану маркерів метаболізму сполучної тканини.

Методи визначення показників метаболізму у сполучній тканині. Визначення показників метаболізму колагену проводили у сироватці крові. Визначення вмісту загального колагену в сироватці встановлювали за рівнем маркерної амінокислоти оксипроліну калориметричним методом [170]. При визначенні загального колагену виконували прямий гідроліз тканини у 6 N розчині HCl [171]. У сироватці крові встановлювали вміст вільного оксипроліну [172].

У сироватці крові хворих визначали окремі фракції маркерної амінокислоти, тобто вміст загального, вільного та зв'язаного оксипроліну. Кількісне визначення оксипроліну кожної окремої фракції проводили методом окислювання оксипроліну в його реакції з хлораміном T [90].

Вміст глікопротеїнів у сироватці крові встановлювали фотоелектрокалориметричним методом за кольоровою реакцією з молібдатом амонію у сірчаноокислотному середовищі [173].

Дослідження фракційного складу ГАГ у сироватці крові проводили шляхом виділення ГАГ з осадженням резохіном та подальшим висолюванням розчинами електролітів та використанням нефелометричного методу [174].

При цьому виділяли фракції з переважанням хондроїтин-6-сульфату (I фракція), хондроїтин-4-сульфату (II фракція), кератан-сульфат, гепаран-сульфат, а також інші високосульфатовані ГАГ (III фракція).

Встановлення вмісту загальних (сумарних) хондроїтинсульфатів у сироватці крові проводили реакцією створення нерозчинних комплексів з риванолом та далі нефелометричним методом [175].

Визначення гемостатичного потенціалу крові

Стан коагуляційної ланки системи гемостазу оцінювали за допомогою електрокоагулографії (електрокоагулограф Н-333) [66], враховуючи такі

структурно-хронометричні параметри:

1) Початок згортання T_1 (хв) – відбиває хронометричні параметри перебігу I і II фаз згортання крові (формування активної протромбінази та утворення тромбіну).

2) Кінець згортання (загальна тривалість згортання) T_2 (хв) – характеризує тривалість усіх трьох фаз згортання крові.

3) Тривалість утворення згустку T (хв) – характеризує III фазу (перетворення фібриногену у фібрин).

4) Швидкість згортання за першу хвилину – V_{c1} (у.о.).

5) За другу хвилину – V_{c2} (у.о.).

6) За третю хвилину – V_{c3} (у.о.).

7) Максимальна амплітуда – A_M (у.о.). – характеризує показники гематокриту.

8) Мінімальна амплітуда – A_0 (у.о.). – характеризує щільність згустку.

Про стан фібринолізу судили за рівнем сумарної та неферментативної фібринолітичної активності. Спосіб оснований на вимірюванні відносної оптичної густини розчину гемоглобіну, який виділився при лізисі кров'яного згустку. Сумарна фібринолітична активність (СФА) крові, яка включає в себе ферментативний та неферментативний процеси, визначається в присутності 0,85 % розчину NaCl; неферментативний фібриноліз (НФ) у присутності ϵ -АКК у кінцевій концентрації 3 %. У цій концентрації ϵ -АКК блокує фібринолітичну дію плазміну, але не впливає на фібринолітичну активність комплексів гепарину [67].

Крім цього, застосовували паракоагуляційні тести: етаноловий і протамін-сульфатний, що свідчать про наявність у досліджуваній плазмі заблокованих фібрин-мономерних комплексів, які не полімеризуються, а також продуктів деградації фібриногену, що відзначається, як правило, при ДВЗ-синдромі. Основою методів є здатність етанолу і протамін-сульфату осаджувати з плазми крові заблоковані комплекси мономерів фібрину і продукти деградації фібриногену у вигляді гелю [173, 68].

2.1.3 Статистичні методи

Статистичну обробку одержаних результатів проводили на ПК за допомогою пакета програм STATISTICA. Цифровий матеріал обробляли методами параметричної та непараметричної статистики. Порівняння груп з різною частотою клінічних ознак проводили з використанням критерію χ^2 (хи-квадрат) [176]. Аналіз альтернативних ознак виконували за [177] з використанням точного критерію Фішера. Розходження вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

2.2 Матеріали і методи експериментальних досліджень

2.2.1 Дизайн експериментального дослідження *in vivo*

В експериментальній частині дослідження був проведений експеримент на 126 щурах-самцях лінії Vister шестимісячного віку. Для моделювання місцевих променевих ушкоджень піддослідних щурів піддавали локальному рентгенівському опроміненню шкіри. Потім протягом 45 діб у тварин, які отримали локальне рентгенівське опромінення, контролювали розвиток МПУ. Проводили спостереження за загальним станом тварин, перебігом МПУ, патоморфозом опроміненої та інфікованої зони, мікробіоценозом шкіри інфікованих тварин та за показниками окремих систем гомеостазу в динаміці.

Експериментальних тварин було розподілено на 5 груп.

До першої групи увійшло 6 щурів, на яких не здійснювали ніякі маніпуляції та впливи (інтактний контроль).

До другої групи увійшло 25 щурів, у яких моделювали променеву виразку в ділянці стегна.

До третьої групи увійшло 25 щурів, у яких моделювали променеву

виразку в ділянці стегна з наступним її інфікуванням *Staphylococcus aureus* на 7-му добу після опромінення.

До четвертої групи увійшло 25 щурів, у яких моделювали променеви виразку в ділянці стегна з наступним її інфікуванням *Staphylococcus aureus* на 7-му добу після опромінення та проведенням фотодинамічної терапії через добу після інфікування (на 8-му добу експерименту).

До п'ятої групи увійшло 45 щурів, у яких моделювали променеви виразку в ділянці стегна з наступним її інфікуванням *Staphylococcus aureus* на 7-му добу після опромінення та проведенням через добу після інфікування (на 8-му добу експерименту) у першій половині дня – фотодинамічної терапії, а у другій половині дня – обколювання багатою на тромбоцити плазмою крові по периферії рани (PRP).

Результати спостережень за розвитком МПУ, патоморфозом травмованої ділянки шкіри, станом гомеостазу тварин та мікробіоценозу шкіри в інфікованих групах фіксували на 7, 14, 21, 30, 45 та 52 д після інфікування.

Моделювання експериментальних променевих виразок шкіри та підлеглих тканин. Променеви uszkodження шкіри та підлеглих тканин у щурів відтворювали на стегновій ділянці правої кінцівки за допомогою рентгенівського випромінювання. Локальне рентгенівське опромінення проводили на рентген-терапевтичному апараті TUR-60. Умови опромінення щурів були наступні: напруга на трубці $U = 50$ кВ, анодний струм $I = 10$ мА, фільтр 0,6 мм Al. Потужність дози при цих умовах складала 33,5 Гр/хв.

Для проведення даного експерименту використовували спеціально виготовлений тубус діаметром 15 мм. У процесі локального опромінювання трубку рентген-апарату приводили у зіткнення з кінцівкою тварини таким чином, щоб отвір свинцевої діафрагми співпадав із епільованою стегновою ділянкою, площа опромінення при цьому складала приблизно 1,8 см².

Дозиметричні вимірювання абсолютних значень потужності дози проводились за допомогою клінічного дозиметру UNIDOS E № Т 10009-090845 з іонізаційною камерою TW 23342 № 1570.

Розрахунок відсоткової поглинутої глибинної дози опромінення проводили відносно поглинутої дози у вільному повітрі та відносно поглинутої дози на поверхні.

Відсоткову поглинуту глибинну дозу опромінення $D_{0\%}$ відносно дози, що вимірювали у повітрі D_0 , розраховували за формулою 2.1:

$$D_{0\%} = \frac{D_{\text{глиб}}}{D_0} \times 100\%, \quad (2.1)$$

де $D_{0\%}$ – відношення відсоткової поглинутої глибинної дози опромінення на даній глибині фантома до дози опромінення у вільному повітрі;

D_0 – поглинута доза опромінення у вільному повітрі, Гр;

$D_{\text{глиб}}$ – поглинута доза на глибині фантома, Гр.

Відсоткову поглинуту глибинну дозу опромінення $D_{\text{п}\%}$ відносно поглинутої дози, виміряної на поверхні фантома $D_{\text{п}}$, розраховували за формулою 2.2:

$$D_{\text{п}\%} = \frac{D_{\text{глиб}}}{D_{\text{п}}} \times 100\%, \quad (2.2)$$

де $D_{\text{п}\%}$ – відношення відсоткової поглинутої глибинної дози опромінення на даній глибині фантома до поглинутої дози опромінення на його поверхні;

$D_{\text{п}}$ – поглинута доза опромінення на поверхні фантома, Гр;

$D_{\text{глиб}}$ – поглинута доза на глибині фантома, Гр.

За допомогою із повіреною в одиницях керми у повітрі іонізаційної камери проводили вимірювання керми у вільному повітрі.

Отримане значення було перетворене у керму у воді. Для цього розраховували відношення масових енергетичних коефіцієнтів поглинання для води та повітря.

Якість пучка рентгенівського випромінення низької енергії обумовлювалося шаром половинного ослаблення і складало 0,525 мм Al.

Згідно розрахункам за вищенаведеними формулами, відсоткова поглинута доза на глибині шкіри і підшкірно-жирової клітковини складала не менш 80 % від поверхневої, що забезпечує значне проникнення випромінення та в цілому відповідає умовам моделювання МПУ згідно сучасних методів планування променевої терапії.

В процесі відтворення придатної експериментальної моделі для розвитку місцевих променевих ушкоджень шкіри тварин піддавали локальному рентгенівському опромінюванню в дозі 85,0 Гр.

Інфікування піддослідних тварин. Штучному інфікуванню бактеріальними штамами *S. aureus* піддавали щурів з 3 – 5 груп дослідження.

Інфікування місцевих променевих ушкоджень шкіри у тварин проводили при появі перших ознак розвитку променевої виразки – на 7 д після локального опромінення. Для інфікування використовували штамп бактерій *Staphylococcus aureus*. В експериментах використовували музейні референтні штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, отримані з музею живих мікроорганізмів ЛСПКІ ДУ ІМІ НАМН.

Інфікування тварин проводили шляхом внесення на поверхню радіаційних ушкоджень 0,2 мл відповідної мікробної суспензії.

З метою обмеження ділянки обсіменіння та запобігання зализування виразки на зоні ранового дефекту попередньо розміщували пластикове кільце з висотою бортику 1,5 см і діаметром 2,0 см. Щільна фіксація кільця до поверхні шкіри тварин здійснювалася за допомогою двостороннього лейкопластиру та додаткових тасъм.

Фотодинамічна терапія та її дія на експериментальні місцеві променеві ушкодження шкіри. Для здійснення фотодинамічної терапії використовували фотонний апарат «Барва-LED / 630». Потужність фотонного випромінення (P) – 25 мВт, довжина хвилі (максимум поглинення випромінювання) – 630 нм. Час опромінення світлом складав 30 хв, енергетична експозиція за сеанс 45 Дж / см².

Як фотосенсибілізатор в експериментах *in vivo* використовували метиленовий синій (Methylenum coeruleum – $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 3H_2O$) [37]. На ранову поверхню променевої виразки наносили 0,1 % водний розчин експериментально обумовленої концентрації метиленового синього з експозицією 30 хв. Тварини з дослідних груп № 4 та № 5 отримували один сеанс ФДТ через добу після інфікування.

Метод отримання PRP- (platelet rich plasma) - плазма збагачена тромбоцитами. У групі № 5 отримання PRP було проведено за методикою R. Dhurat та співавт. [178].

Метод проведення плазмотерапії. Кров відбирали з ліктьової вени та центрифугували, під час цього процесу відбувалося відділення плазми, багатой тромбоцитами (фото 2.1).



Фото 2.1 – Зовнішній вигляд плазми, багатой тромбоцитами, в пробірці після центрифугування

Надалі пробірки обережно витягали та відбирали багату тромбоцитами плазму (БаТП) шприцом, не зачіпаючи нижній шар крові (фото 2.1).

Після обробки шкіри спиртом проводилося введення отриманої БаТП по

0,5 мл в точку по контуру кожні 1,5 см клаптя та по периферії променевої виразки в життєздатні тканини кроком в 0,7–1,0 см та відстанню близько 1,0 см від краю клаптя або передбачуваного краю висічення виразкового дефекту. Глибина введення БАТП становила 2–3 см – на всю глибину сформованого клаптя та 3–5 см у ділянку променевої виразки на глибину запланованого висічення субстрату.

Утримання піддослідних тварин та способи їх умертвіння. Усіх тварин утримували в однакових стандартних умовах (їжа і вода ad libitum). Умови утримання і поводження з тваринами відповідали вимогам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [52].

Утримання тварин, інфікування променевих дефектів шкіри, процедури ФДТ на інфікованих тваринах та забір матеріалу проводили в окремому боксі на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова з дотриманням усіх правил та норм при праці з умовно патогенними мікроорганізмами, з дотриманням усіх правил асептики і антисептики.

Усі маніпуляції з піддослідними тваринами проводили під наркозом. Протягом досліджень та після їх закінчення піддослідних тварин виводили з експерименту під наркозом з дотриманням правил евтаназії згідно з принципами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» і методичними рекомендаціями «Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» [52, 53].

Методи спостереження за перебігом МПУ. Стан МПУ в динаміці оцінювали по клінічним ознакам променевої виразки та шляхом визначення площі її площі. Площу МПУ в динаміці встановлювали методом планіметрії [179].

2.2.2 Дослідження *in vitro*

Дослідження *in vitro* проводили на добових мікробних культурах *S. aureus* в чашках Петрі діаметром 35 мм з поживним агаром. Для цих експериментів використовували референтний штам *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, отриманий з музею живих мікроорганізмів ЛСПКІ ДУ «ІМІ НАМН».

В процесі розробки оптимальних параметрів антибактеріальної фотодинамічної терапії в експериментах *in vitro* застосовували немонохроматичне джерело червоного світла на базі над'яскравого світлодіода та використовували фотосенсибілізатор метиленову синь. В експериментах встановлювали оптимальні параметри світлодіодного випромінювання – густину потоку енергії випромінювання ($\text{Вт} / \text{см}^2$) та енергетичну експозицію ($\text{Дж} / \text{см}^2$).

Також було проведено підбір концентрації обраного для експериментів *in vivo* фотосенсибілізатора метиленового синього.

Дослідження фотодинамічної дії на мікробні культури in vitro. При встановленні оптимальної густини потоку енергії випромінювання та експозиції світлового опромінювання були проведені експерименти *in vitro* з фотосенсибілізатором метиленовим синім для виявлення бактерицидного ефекту в залежності від концентрації барвника. В експериментах як джерело світла використовували фотонний апарат «Барва-LED / 630». Проводилося випробування розчину метиленового синього у концентрації 0,1 та 0,05 % як складового компонента фотодинамічної дії.

Мікробіологічні методи дослідження. Мікробіологічні дослідження, проводили згідно з діючими нормативними документами за загальноприйнятими методиками [180].

Мікробіологічні дослідження антимікробного ефекту ФДТ *in vitro* включали в себе визначення кількості внесених мікробних клітин в чашках Петрі. Об'єктом мікробіологічних досліджень був референтний штам

Staphylococcus aureus ATCC 25923, отриманий з музею живих мікроорганізмів ЛПІКІ ДУ ІМІ НАМН.

При дослідженні користувались сертифікованими поживними середовищами виробництва «Дослідне виробництво бактеріальних заквасок Технологічного інституту молока та м'яса ААН України» (м. Київ, Україна) та Hi Media Laboratories Ltd (Індія), які мали реєстраційні посвідчення в Україні, також використовували набори та окремі тести виробництва PLIVA-Lachema (Чехія), bioMerieux (Франція), ЗАТ «Біолік» (м. Харків, Україна).

Приготування поживних середовищ здійснювалось згідно з ДСТУ 10.444.1 – 84 (СТСЭВ 3833 – 82). Контроль якості поживних середовищ проводили за рекомендаціями фірм-виробників, які викладено у сертифікатах до продукції, а також за Інформаційним листом МОЗ України № 05.4.1/1670 «Бактеріологічний контроль поживних середовищ», Київ, 2000.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу та нормативними документами [181]. З поверхні агарових середовищ стерильним фізіологічним розчином змивали добові тест-культури та доводили до 1,0 одиниці оптичного стандарту щільності за McFarland. Синхронізація культур перед приготуванням зразків досягалася одноразовим впливом низької температури (40С) упродовж 30 хвилин [182]. Виготовлені суспензії бактерій послідовно десятикратно розводили фізіологічним розчином до 10^{-6} . Число живих мікроорганізмів (колонієутворюючі одиниці) визначали методом серійних розведень із послідуочим висівом на відповідні поживні середовища.

При приготуванні дослідних зразків у підготовлені чашки Петрі з поживним агаром вносили з розведень 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} по 0,1 мл приготовленої суспензії бактеріальних клітин та рівномірно розподіляли. Таким чином, мікробне навантаження на одну чашку становило від $3 \cdot 10^2$ мікробних клітин стафілококу до 3 мікробних клітин.

При визначенні протимікробної дії ФДТ дослідження проводили для кожного з видів бактерій у триразовому повторі. На засіяні відповідним видом мікроорганізмів чашки (кожної концентрації окремо) наносили 0,2 мл розчину 0,1 % метиленового синього. Експозиція ФС становила 30 хвилин при кімнатній температурі у темряві. Контролями слугували засіяні відповідним чином чашки без нанесення ФС.

Дослідні та контрольні чашки поміщали у термостат при температурі 37⁰С на 18 – 20 годин. Після інкубації підраховували число вирослих колоній у дослідній та контрольних групах.

Кількість мікроорганізмів у поживному середовищі на чашках Петрі виражали в десяткових логарифмах числа мікроорганізмів на мілілітр – (lg КУО / мл). Це показник об'ємної концентрації колонієутворюючих одиниць (КУО) на одиницю об'єму, виражений у десяткових логарифмах.

Число КУО / мл бактерій визначали за формулою, підраховуючи ізольовані колонії у чашках з урахуванням розведення та посівної дози 0,1 мл. Для зручності отримані результати визначення кількості мікроорганізмів виражали в десяткових логарифмах числа мікроорганізмів на чашку – lg КУО / чашку:

$$X = 10 \cdot N \cdot M, \quad (2.1)$$

де X – число КУО/мл;

10 – постійний коефіцієнт при посіві 0,1 мл матеріалу;

N – кількість колоній;

M – розведення (в 10, 100, 1000 разів тощо)

В експериментах *in vivo* по вивченню антимікробного ефекту ФДТ об'єктом мікробіологічних досліджень був циркулюючий клінічний штам.

У цьому дослідженні також користувались сертифікованими поживними середовищами виробництва «Дослідне виробництво бактеріальних заквасок Технологічного інституту молока та м'яса ААН України» (м. Київ, Україна).

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили згідно з нормативними документами [181]. Методика приготування суспензій мікроорганізмів проводилась таким же чином, як і у дослідженнях *in vitro*.

Інфікування тварин проводили шляхом внесення 0,2 мл відповідної мікробної суспензій на поверхню радіаційних ушкоджень.

Забір матеріалу з об'єкта дослідження проводили за допомогою стерильного ватного тампону. Час доставки матеріалу у лабораторію складав 10 – 15 хвилин. Матеріал з тампону ретельно відмивали в 1 мл стерильного фізіологічного розчину та готували ряд послідовних десятикратних розведень. По 0,1 мл з кожного розведення висівали на відповідні для кожного виду мікроорганізмів поживні середовища (для стафілококу манніт-сольовий агар). Посіви культивували упродовж 18 годин при температурі 37⁰С. Ідентифікацію тест-штаму здійснювали за морфологічними, тінкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями. Поверхневу концентрацію мікроорганізмів визначали шляхом підрахунку КУО з урахуванням розведення досліджуваного матеріалу.

З підготованої проби мікробного штаму готували ряд послідовних десятикратних розведень. По 0,1 мл з кожного розведення висівали на відповідне середовище для виділення чистих культур, як викладено у нормативних та методичних посібниках загальноприйнятими методами [181].

Одержані результати визначення кількості мікроорганізмів для зручності виражали в десяткових логарифмах числа мікроорганізмів на квадратний сантиметр ($\lg \text{КУО} / \text{см}^2$). Цей показник визначає поверхневу концентрацію колонієутворюючих одиниць у інфікованих тварин.

Біохімічні методи дослідження. Визначення показників перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС) проводили у сироватці крові. Як показники стану ПОЛ визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА).

Визначення вмісту дієнових кон'югатів виконували за методом

І. Д. Стальної у модифікації В. І. Скорнякова і співавт. з використанням суміші гептану з ізопропанолом (1:1) [173].

Визначення концентрації МДА проводили за методом Uchiyama M. & Michara M. у модифікації за тестом з тіобарбітуровою кислотою [173].

Активність антиоксидантного ферменту супероксиддісмутази (СВД) оцінювали методом окиснювання кверцетину у модифікації В. О. Костюка і співавт. [173].

Активність антиоксидантного ферменту каталази визначали за методом М. А. Королюка і співавт. з використанням пероксиду водню та молібдату амонію [183].

Вміст сумарних метаболітів оксиду азоту визначали за методом В. А. Метельської [173]. Даний спектрофотометричний метод кількісного встановлення нітрит-іонів базується на здібності первинних ароматичних амінів у присутності азотистої кислоти створювати інтенсивно фарбовані діазосполуки.

Активність мієлопероксидази (МПО) крові встановлювали цитохімічним методом та виражали у показниках середнього цитохімічного коефіцієнту (СЦК) [183].

Гематологічні методи. Підрахунок клітинних елементів периферичної крові та вміст гемоглобіну здійснювали згідно з уніфікованими загальноприйнятими методиками [184].

Методи дослідження системи гемостазу проводили на полуавтоматичному коагулометрі «Thrombotimer-2» з вивченням показників коагуляційного гемостазу – активованого парціального тромбoplastинового часу (АПТЧ), протромбінового часу (ПЧ), тромбінового часу (ТЧ) та вмісту фібриногену за допомогою тест-систем фірми «Технологія-Стандарт».

Визначення АПТЧ. Дана методика виконується згідно з інструкціями по використанню тест-систем за допомогою уніфікованого набору реагентів «АПТВ-Эл-тест».

Визначається час згортання бідної тромбоцитами цитратної плазми в умовах стандартизованої контактної (елаговою кислотою) і фосфоліпідами (кефаліном) активації процесу коагуляції в присутності іонів кальцію.

Характеризує внутрішній шлях згортання. АПТЧ – високо стандартизована проба, чутлива тільки до плазмових дефектів згортання, зокрема до дефіциту у плазмі крові XII, XI, IX і VIII факторів, а також до надлишку антикоагулянтів.

Визначення ПЧ. Дана методика виконується згідно з інструкціями по використанню тест-систем за допомогою уніфікованого набору реагентів «Техпластинтм -тест».

Тромбопластин (фактор III, тромбокіназа) перетворює протромбін бідної тромбоцитами цитратної плазми крові в присутності іонів кальцію у активний фермент тромбін, котрий трансформує фібриноген плазми крові у нерозчинний фібрин [173].

Вимірюється протромбіновий час – час утворення фібрину у плазмі крові в присутності іонів кальцію і тромбопластину (розчинного екстракту з мозку кролика).

Результати цього тесту залежать від активності факторів протромбінового комплексу V, VII, IX та X і характеризують функціонування зовнішнього механізму гемокоагуляції.

Визначення ТЧ. Дана методика виконується згідно з інструкціями по використанню тест-систем за допомогою уніфікованого набору реагентів «Тромбо-тест».

Визначається час згортання бідної тромбоцитами цитратної плазми крові під впливом розчину тромбіну стандартної активності, що супроводжується переходом фібриногену у фібрин з утворенням згустку.

Характеризує кінцевий етап гемокоагуляції – утворення фібрину.

Визначення концентрації фібриногену. Дана методика виконується згідно з інструкціями по використанню тест-систем за допомогою уніфікованого набору реагентів «Тех-Фібриноген-тест».

Принцип методу полягає у визначенні часу згортання розведеної бідної тромбоцитами цитратної плазми крові надлишком тромбіну. Час згортання при цьому пропорціональний концентрації фібриногену, котру визначають за калібрувальним графіком.

Морфологічні методи. Матеріалом морфологічного дослідження була шкіра з підлеглими м'якими тканинами з області стегна експериментальних тварин, де моделювали променеви виразку або інфіковану променеви виразку. Отриманий матеріал від експериментальних тварин фіксували в 10 % розчині формаліну. Ущільнення тканин, фіксованих у формаліні, досягалося проведенням через спирти зростаючої концентрації, рідину Никифорова (96 % спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1: 1), хлороформ і заливкою у парафін. З приготованих блоків для подальшого фарбування готували серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м. Мікропрепарати, пофарбовані гематоксиліном і еозином, пікрофуксином по ван Гізону.

Морфометричні дослідження проводились на мікроскопі «Olympus BX-41» з подальшою обробкою зрізів по програмі «Olympus DP-soft version 3.1» [183]. Визначали слідуєчі морфометричні показники ранової порожнини: питомий об'єм лейкоцитарно-некротичного шару, зони демаркаційного лейкоцитарного валу, грануляційної тканини, сполучної тканини. Також у кожному випадку проводили вимірювання площі вертикального перетину ранової порожнини.

Гістологічні методики виконувалися за схемами, які викладені в інструкціях по гістологічній і гістохімічній техніці [183].

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5–6 мкм, прямим і непрямим методом Кунса за методикою М. Brosnan (1979 р.) з використанням моноклональних антитіл (МКА) до CD 18, ED1, колагену I, III (Novocastra Laboratories Ltd.). Препарати вивчали в люмінісцентному мікроскопі «Axioskor 40». Оптичну щільність імунофлюоресценції колагенів визначали за методом Губіної-Вакулик Г.І. і співавт. [185].

Кількість імунних клітин визначали в поле зору $\times 400$ і висловлювали у відсотках (%). Проводили обчислення лейкоцитарно-макрофагального індексу як співвідношення середнього значення відносного обсягу CD 18 до ED 1.

Статистичні методи експериментальних досліджень. Статистичну обробку одержаних результатів проводили на комп'ютері за допомогою пакета програм STATISTICA. Цифровий матеріал обробляли методами параметричної та непараметричної статистики. Порівняння груп з різною частотою клінічних ознак проводили з використанням критерію χ^2 (хи-квадрат) [176]. Аналіз альтернативних ознак виконували з використанням точного критерію Фішера [177]. Розходження вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

Аналіз цифрових даних морфологічного дослідження виконували з використанням програми «Statistic Soft 6.0». Отримані результати наведені у вигляді значень $M \pm m$. Середні значення показників в групах порівнювали за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями показників приймалася при рівні значущості $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ПРОФІЛАКТИКА РАННІХ ПРОМЕНЕВИХ УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ЧАС ПРОМЕНЕВОГО ЛІКУВАННЯ ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ ФОТОМАГНІТНОЇ ТЕРАПІЇ

3.1 Вплив фотоманітної терапії на стан шкірних реакцій у хворих на РГЗ під час променевого лікування

Патогенетичними особливостями МПУ шкіри є неухильне прогресування як його клінічних проявів (гіперемія, набряк, порушення мікроциркуляції, болісність, підвищення температури в зонах опромінювання) так і морфологічних змін шкіри.

Тому превентивну лікувальну дію, спрямовану на запобігання розвитку постпроменевих патологічних процесів у шкірі, можна вважати патофізіологічно обгрунтованою і доцільною.

Основні вимоги до профілактики та лікування МПУ шкіри передбачають покращення або відновлення мікроциркуляції, ослаблення набряку та запалення, знеболення, стимуляцію репарації. Всім цим вимогам відповідає вплив фотоманітного випромінювання на зони, що підпадають під дію іонізуючої радіації.

За літературними даними [71–75], показана можливість застосування різних фізичних чинників, які спроможні стимулювати припинення первинних патогенетичних ланок розвитку МПУ, шляхом прискорення репараційних процесів, відновлення мікросудин та мікроциркуляції.

У роботі використовувались два фізичних чинники. Перший чинник – дія фотоматриць червоного ($\lambda_{\text{max}}=660$ нм) кольору.

Другим фізичним чинником, для якого доведена здатність стимулювати різного роду репаративні процеси в організмі, може бути енергія магнітного поля, яка здатна ініціювати магнітобіологічні ефекти, у тому числі

прискорення репаративних процесів та нівеляції шкідливих наслідків променевої і хіміотерапії [77–81].

Показано, що використання магнітної терапії (МТ) у післяопераційному періоді прискорює загоєння ран, покращує мікроциркуляцію в тканинах, підсилює їх кровопостачання, гальмує процеси склерозування і фібротизації в опромінених органах і тканинах, знижуючи тим самим частоту розвитку місцевих променивих ушкоджень [82, 83].

Враховуючи все вищезазначене, стає зрозумілим, що доцільно об'єднати позитивні ефекти фотонної і магнітної терапії для посилення їх лікувальної дії.

Поєднання дії двох фізичних чинників односпрямованої біологічної дії (фотонного і магнітного випромінювання) застосовувалось для отримання адитивного ефекту з метою профілактики та лікування МПУ шкіри.

Під спостереженням знаходилися 26 хворих на РГЗ (II–III Б стадії), які отримували післяопераційний курс променевої терапії (ПТ). Усі хворі перед початком ПТ і ФМТ мали гістологічно підтверджений діагноз РГЗ, а також гістологічний висновок після тотальної мастектомії.

Хворі були розподілені на 2 групи – основну та групу порівняння.

Перша група (порівняння) складалася з 10 хворих, що перенесли операцію з приводу радикального видалення злоякісної пухлини грудної залози з подальшою ПТ (СВД–40,0 Гр).

Друга група хворих (основна) складалася з 16 хворих та отримувала післяопераційний курс ПТ паралельно з ФМТ з використанням червоного Режим проведення ФМТ описаний в розділі «Матеріали і методи». ФМТ проводили щодня на зони дії іонізуючої радіації в процесі ПТ (зона післяопераційного рубця, над-, підключична і парастернальна ділянки).

Оцінку шкірних проявів проводили за 5-бальною системою Національного Інституту Раку США (NCI). Згідно з цією класифікацією є такі ступені тяжкості МПУ: 0 – відсутність ознак змін на шкірі; I – бліда еритема; II – від помірної до яскравої еритеми, волога десквамація; III – зливна волога десквамація; IV –

некроз, укривання виразками. В процесі променевої терапії враховували інтенсивність проявів шкірних реакцій кожного ступеня за 10-бальною шкалою.

Відразу варто відзначити, що при тривалій дії на нормальну шкіру червоним світлом, а також магнітним випроміненням, будь-яких побічних ефектів (алергія, свербіж, почервоніння) не спостерігалось. Це дало підставу вважати використання ФМТ в клініці цілком безпечним.

У хворих референтної групи виявлені закономірності в розвитку клінічних ознак МПУ і зміна фаз патологічних змін шкіри залежно від часу дії і сумарної отриманої дози (СВД) іонізуючої радіації. Так, після початку ПТ у хворих групи порівняння з'являлася первинна еритема у вигляді невираженої зміни забарвлення шкіри на блідо-рожевий колір на ділянках дії іонізуючої радіації, яка зберігалася протягом 14 діб. До 3-ї доби ПТ, коли локальна доза радіації складала 6,0 Гр, в 100 % випадків променеве ушкодження шкіри відповідало I ступеню тяжкості (5,8 бали). Ступінь тяжкості променевої еритеми, залежно від типу шкіри і загального стану хворих, можна було оцінити значеннями від 3 до 7 балів. Деякі хворі скаржилися на легке свербіння (табл. 3.1). В середньому вираженість первинних постпроменевих реакцій оцінювалася в 5,8 бали.

В основній групі хворих, які отримували ФМТ, на 3-ю добу після початку ПТ у 81,2 % випадків шкірні постпроменеві реакції практично були відсутні (0 балів) і лише у 3 пацієнток (18,7 %) легкий рожевий відтінок шкіри можна було кваліфікувати як первинну еритему (1,6 бали). Ознаки первинної еритеми в окремих хворих в основній групі були в 3,6 разів менш виражені, ніж у контролі ($P < 0,05$, табл. 3.2, 3.3).

Вираженість індивідуальних радіаційно-індукованих уражень шкіри хворих на РГЗ під час ПТ (група порівняння)

№	Пацієнтка	Доба					
		1	3	5	15	21	30
1	М. Н. А.	I ст. – 2 б. (1,2)	I ст. – 3 б.(1,2)	I ст. – 5 б. (1,2)	I ст. – 10 б. (1,2)	I ст. – 10 б. (1,2)	I ст. –10 б.(1,2)
2	К. Л. Г.	I ст.– 3 б. (1,2)	I ст. – 3 б. (1,2)	I ст.- 6 б. (1,2) I ст.-5 б. (1,2)	I ст. – 8 б. (1) I ст.– 9 б. (2)	I ст.- 10 б. (1,2)	I ст.- 10 б. (1,2)
3	З. О. В.	I ст. – 4 б. (1,2)	I ст. – 6 б. (1,2)	II ст.– 11 б. (1) II ст.- 12 б. (2)	II ст.- 12 б. (1,2)	II ст.- 18 б. (1) II ст.- 15 б. (2)	II ст.- 18 б. (1) II ст.- 12 б. (2)
4	К. Є. А.	I ст. – 5 б. (1,2)	I ст. – 5 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1) II ст. – 13 б. (2)	II ст. – 18 б. (1) II ст. – 13 б. (2)	II ст. – 19 б. (1) II ст. – 12 б. (2)
5	Ж. Л. И.	I ст. – 3 б. (1,2)	I ст. – 6 б. (1,2)	II ст. – 14 б. (1,2)	II ст. – 16 б. (1,2)	II ст. – 19 б.(1,2)	II ст. – 19 б.(1,2)
6	Н. В. И.	I ст. – 5 б. (1,2)	I ст. – 7 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1,2)	II ст. – 14 б. (1,2)	II ст. – 13 б. (1,2)	II ст. – 16 б. (1,2)
7	К. А. Я	I ст. – 3 б. (1,2)	I ст. – 5 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1,2)	II ст. – 12 б. (1,2)	II ст. – 12 б. (1,2)	II ст. – 14 б. (1,2)
8	П. Т. Б	I ст. – 3 б. (1) I ст. – 5 б. (2)	I ст. – 5 б. (1) I ст. – 6 б. (2)	I ст. – 7 б. (1,2)	II ст. – 12 б. (1) II ст. – 14 б. (2)	II ст. – 18 б. (1) II ст. – 15 б. (2)	II ст. – 16 б. (1) II ст. – 15 б. (2)
9	Б. В. Н	I ст. – 3 б. (1,2)	I ст. – 6 б. (1,2)	II ст. – 11 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1,2)	II ст. – 19 б. (1,2)	II ст. – 19 б. (1,2)

№	Пацієнтка	Доба					
		1	3	5	15	21	30
10	С. С. П.	I ст. – 3 б. (1,2)	I ст. – 6 б. (1,2)	I ст. – 7 б. (1,2)	II ст. – 14 б. (1,2)	II ст. – 11 б. (1,2)	II ст. – 15 б. (1,2)
	Середнє число балів (\bar{x}) у хворих з 0 ступенем тяжкості МПУ	-	-	-	-	-	-
	Середнє число балів (\bar{x}) у хворих з I ступенем тяжкості МПУ	3,9	5,8	6,0	9,0	10,0	10,0
	Середнє число балів (\bar{x}) у хворих з II ступенем тяжкості МПУ	-	-	13,28	13,7	14,5	15,9
	Ступінь тяжкості радіаційно-індукованих уражень, n, %:	0 ст. – 0 %	0 ст. – 0 %	0 ст. – 0 %	0 ст. – 0 %	0 ст. – 0 %	0 ст. – 0 %
		I ст. – 100 % n = 10	I ст. – 100 % n = 10	I ст. – 40 % n = 4	I ст. – 20 % n = 2	I ст. – 20 % n = 2	I ст. – 20 % n = 2
		II ст. – 0 %	II ст. – 0 %	II ст. – 60 % n = 6	II ст. – 80 % n = 8	II ст. – 80 % n = 8	II ст. – 80 % n = 8

Примітки: 1. б. — бали;
 2. (1) — зона в парастернальній, над- і підключичній ділянці;
 3. (2) — зона в ділянці післяопераційного рубця;
 4. n – кількість пацієнтів у групі

Таблиця 3.2

Вираженість індивідуальних радіаційно-індукованих ушкоджень шкіри хворих на РГЗ, які отримували ФМТ під час ПТ
(основна група)

№	Пацієнтка	Доба					
		1	3	5	15	21	30
1	Т. Л. А.	0 ст. (1,2)	0 ст.(1,2)	I ст. – 1 б. (1,2).	I ст. – 1 б. (1,2)	I ст. – 1 б. (1,2)	I ст. – 1 б. (1,2)
2	К. Л. С.	0 ст. (1,2)	0 ст.(1,2)	0 ст.(1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
3	Ш. А. Ф.	0 ст. (1,2)	I ст.- 1 б. (1,2)	I ст.- 1 б. (1)	I ст.- 1 б. (1,2)	I ст.- 1 б. (1,2)	0 ст. (1,2)
4	Ч. О. В.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
5	М. Г. А.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	I ст. – 1 б. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
6	С. Н. В.	0 ст. (1,2)	0 ст.(1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
7	К. Л. А.	0 ст. (1,2)	0ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	I ст. – 2 б. (1,2)	I ст. – 2 б. (1,2)	I ст. – 1 б. (1,2)
8	М. Т. Н.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
9	Г. Н. І.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст.(1,2)	0 ст.(1,2)	0 ст.(1,2)
10	Н. Л. А.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
11	Г. Н. В.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
12	Б. О. Л.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
13	А. Д. В.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)

№	Пацієнтка	Доба					
		1	3	5	15	21	30
14	Ш. І. К.	0 ст. (1,2)	ст.- 2 б. (1,2)	I ст. – 1 б. (1) I ст. – 2 б. (2)	0 ст. (1) I ст.- 1 б. (2)	0 ст. (1)	0 ст. (1,2)
15	П. І. М.	0 ст. (1,2)	ст.- 2 б. (1,2)	I ст. – 1 б. (1) I ст. – 2 б. (2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
16	М. З. І.	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	I ст. – 1 б. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)	0 ст. (1,2)
	Середнє число балів (\bar{x}) у хворих з I ступенем тяжкості МПУ	0	1,6	1,3	1,2	1,3	1,0
	Ступінь тяжкості радіаційно- індукованих уражень, n, %	0 ст. – 100 %	0 ст.– 13 (81,2 %) I ст.- 3 (18,7 %)	0 ст. – 11 (68,75 %) I ст.– 5 (31,2 %)	0 ст. – 11 (68,75 %), I ст.- 5 (31,2 %)	0 ст. – 11 (68,75 %), I ст.- 5 (31,2 %)	0 ст. – 14 (87,5%), I ст.- 2 (12,5%)

Примітки: 1. б. — бали;

2. (1) — зона в парастернальній, над- і підключичній ділянці;

3. (2) — зона в ділянці післяопераційного рубця.

Таблиця 3.3

Ступінь тяжкості радіаційно-індукованих ушкоджень шкіри, які розвивалися в процесі променевої терапії, а також при ПТ на тлі фотоманітної терапії

Ступінь тяжкості радіаційно-індукованих ушкоджень		1 д (2,0 Гр)		3 д (6,0 Гр)		5 д (10,0 Гр)		15 д (20,0 Гр)		21 д (30,0 Гр)		30 д (40,0 Гр)	
		Контр.	ФМТ	Контр.	ФМТ	Контр.	ФМТ	Контр.	ФМТ	Контр.	ФМТ	Контр.	ФМТ
0	n / %	-	16 (100 %)	-	13 (81,2 %)	-	11 (68,75 %)	-	11 (68,75 %)	-	13 (81 %)	-	14 (87,5 %)
	\bar{x} бал	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0
I	n / %	10 (100 %)	-	10 (100 %)	3 (30 %)	4 (40,0 %)	5 (31,2 %)	2 (20,0 %)	5 (31,2 %)	2 (20,0 %)	3 (18,75 %)	2 (20,0 %)	2 (12,5 %)
	\bar{x} бал	3,9 (100 %)	-	5,8 (100 %)	1,6 (27,6 %)*	6,0 (100 %)	1,3 (21,6 %)*	9,0 (100 %)	1,0 (11,1 %)*	10,0 (100 %)	1,3 (13,0 %)*	10,0 (100 %)	1,0 (10,0 %)*
II	n / %	-	-	-	-	6 (60 %)	-	8 (80 %)	-	8 (80 %)	-	8 (80 %)	-
	\bar{x} бал	-	-	-	-	13,28 (100 %)	-	13,7 (100 %)	-	14,5 (100 %)	-	15,9 (100 %)	-

Примітки: 1) n = 10 осіб та n = 16 у групі порівняння та у досліджуваній групі відповідно;
 2) \bar{x} – середнє число балів;
 3) * – вірогідно відносно контролю.

У групі порівняння на 5-ту добу ПТ СВД променевої дії збільшувалася і складала вже 10,0 Гр, що позначалося на характері і вираженості променевих реакцій шкіри. Променеві реакції на рівні I ступеня тяжкості (6,0 балів) зберігалися лише у 4 хворих (40,0 %), а в переважній більшості хворих (60,0 %) тяжкість променевого ушкодження шкіри збільшувалася. Так, спостерігалася стійка еритема, легка набряклість шкіри, підвищена чутливість при пальпації, що відповідало II ступеню тяжкості променевих реакцій (13,28 бали) (табл. 3.1, фото 3.1).



Фото 3.1 – Хвора групи порівняння на 5-у добу ПТ

В основній групі хворих в результаті ФМТ вираженість постпроменевих реакцій шкіри значно зменшилася. У більшості хворих, які отримували ФМТ, не спостерігалася навіть початкових ознак променевих реакцій (відсутність первинної еритеми). Група хворих з пролонгованою латентною фазою на 5-ту добу ПТ (СВД – 10,0 Гр) складала 68,8 % (0 балів) (табл. 3.2, фото 3.2). Еритема мінімального ступеня вираженості (1,3 бали, I ступінь тяжкості) зберігалася лише у 5 хворих (31,2 %), причому у тих самих, в яких дані реакції спостерігалися на 3-тю добу. При цьому інтенсивність гіперемії в порівнянні з показниками в контролі у цей термін була в 4,5 рази або на 78 % менш вираженою (1,14 бали проти 4,4 бали в контролі, $P < 0,05$) (табл. 3.2, 3.3).



Фото 3.2 – Хвора з ФМТ на 5-у добу ПТ

На 15-ту добу від початку ПТ (СВД–20,0 Гр) у групі порівняння вже майже у 80,0 % хворих визначалися МПУ шкіри II ступеня тяжкості (в середньому 14 балів). У решти пацієток, хоча постпроменеві реакції їх шкіри і оцінювалися як I ступінь тяжкості, але інтенсивність проявів збільшувалася на третину в порівнянні з показниками попередніх термінів (5,76 проти 9,0 балів на 5-ту і 15-ту добу відповідно, табл. 3.1, фото 3.3).



Фото 3.3 – Пацієтка групи порівняння на 15-ту добу ПТ

У хворих, які отримували ФМТ, в середині курсу ПТ (15-та доба) показники променевої реакції шкіри стабілізувалися. У цей період, не зважаючи на збільшення дози радіації (20,0 Гр), ознак посилення постпроменевої реакції шкіри не спостерігалося. У всіх хворих даної групи показники інтенсивності шкірних реакцій склали 0–1 бал (табл. 3.2, фото 3.4), що в порівнянні з показниками у групі порівняння у цей термін було нижче на 90 % (табл. 3.2, 3.3).



Фото 3.4 – Пацієнтка з ФМТ на 15-ту добу ПТ

У групі порівняння на 21-шу і 30-ту добу спостереження, по мірі збільшення дози опромінювання (до 30,0 і 40,0 Гр відповідно), ступінь вираженості шкірних реакцій, у порівнянні з первинними значеннями, збільшився майже в 2 рази (5,8 і 10,0 балів на 3-тю – 4-ту і 30-ту добу відповідно, $P < 0,05$). Проте, із зростанням дози радіації кількість хворих з II ступенем тяжкості МПУ шкіри не збільшувалася, вона залишалася в межах 80,0 % на 15-у, 20-ту і 30-ту добу при середньому значенні балів від 14 до 16 (табл. 3.1, фото 3.5).



Фото 3.5 – Пацієнтка групи порівняння на 21-шу добу ПТ

В основній групі хворих, що піддавалися дії фотомагнітної матриці, інтенсивність проявів МПУ шкіри зменшувалася, а кількість хворих, у яких шкірні реакції були відсутні (0 балів), збільшувалася. Так, в основній групі на 15-ту добу променеві реакції I ступеня тяжкості відзначалися в 31,2 % випадків, а у віддалені терміни кількість таких хворих значно зменшувалося (до 18,7 і 12,5 % на 21-шу і 30-ту добу відповідно, табл. 3.2). При цьому інтенсивність постпроменевих реакцій шкіри була на 90 % нижче порівняно з показниками групи порівняння (табл. 3.3).

Слід зазначити, що у переважної більшості хворих (68,2 %), які отримували ФМТ, ознаки променевих реакцій шкіри (гіперемія, болючість, лущення шкіри, мокнучі ділянки, ерозії, тріщини, набряк), були відсутні на відміну від групи порівняння [86-89].

Якщо у групі порівняння первинна еритема, як ознака реакції шкіри на дію іонізуючої радіації, з'являлася в усіх хворих вже на 1-шу добу ПТ (ступінь вираженості 3,9 бали), то у хворих з ФМТ в 80 і 70 % випадків на 3-тю і 5-ту добу

ознаки променевої реакції шкіри були відсутні (0 або 1,0 бали) (табл. 3.2, фото 3.6).



Фото 3.6 – Пацієнтка з основної групи на 21-шу добу ПТ

Проведення променевої терапії під «прикриттям» фотоманітної дії збільшувало тривалість латентного періоду появи перших ознак первинної еритеми на 3-тю – 5-ту добу, а також запобігало розвитку клінічних проявів променевої ураження шкіри аж до останніх сеансів ПТ.

Продемонстровану в часі динаміку появи перших ознак МПУ шкіри у групі порівняння та в групі ФМТ можна пояснити радіомодифікуючою дією фотоманітного випромінювання з активацією енергетичних і біосинтетичних процесів в клітині. Тобто, ФМТ ще в період продовження ПТ сприяла відновленню шкірних покривів майже в 90,0 % випадків, що свідчить про позитивну динаміку відновлювального процесу.

Здібність шкіри до зниження шкірних реакцій під час променевої терапії доведено у роботах з використанням низки препаратів [91-96].

В цілому, показана можливість і доцільність запобігання та зменшення МПУ шкіри, які виникли при дії іонізуючої радіації, в процесі сеансів ПТ.

3.2 Вплив фотоманітної терапії на стан маркерів метаболізму сполучної тканини в сироватці крові хворих на РГЗ під час променевого лікування

Для з'ясування механізмів дії ФМТ на опромінену шкіру в сироватці крові хворих на РГЗ визначали показники стану метаболізму сполучної тканини, а саме маркери обміну основного білка шкіри – колагену і основних метаболітів міжклітинного матриксу – глікозаміногліканів.

Про стан обміну колагену можна судити по кількості його маркерної амінокислоти – оксипроліну (ОП) в тканинах та біологічних рідинах. Зміни рівня ОП у сироватці крові хворих можуть бути показником порушень обміну колагену в критичному для даної патології органі, зокрема, при ПТ – в опроміненій шкірі. У сироватці крові ОП виявляється у вільному і зв'язаному з білками і пептидами вигляді. Вільний ОП відображує процеси деградації колагену, а пептидно-зв'язаний – більшою мірою вказує на інтенсивність синтезу колагену, оскільки основна його кількість відноситься до фрагментів N-кінцевих пропептидів проколагену I типу, які відщеплюються на кінцевих етапах синтезу в процесі формування колагену I типу, основного типу колагену шкіри [97- 99].

Важливе значення має співвідношення вільного і зв'язаного ОП, яке вказує на ступінь активації обміну колагену в цілому [100].

Як відомо, фібротизація сполучної тканини, зокрема шкіри, супроводжується надмірним накопиченням колагену, деформацією колагенових волокон у фіброзних зонах, порушенням співвідношення різних типів колагену. Подібні явища лежать і в основі розвитку променевого фіброзу шкіри [101, 102].

Для характеристики змін метаболізму в сполучній тканині шкіри під впливом ПТ в хворих на РГЗ до і після ПТ в сироватці крові визначали наступні показники: сумарний ОП і його фракції – вільний і зв'язаний гідроксипролін; вміст ГАГ і їх фракційний склад, вміст глікопротеїнів і хондроїтинсульфатів. За норму вважали власні дані – відповідні показники контрольної групи здорових донорів – 30 жінок.

Дослідження сироватки крові в групі контролю показало, що середній вміст сумарного ОП в сироватці крові складав $20,14 \pm 0,68$ мкмоль/л, зокрема рахунку $11,6 \pm 0,4$ мкмоль/л вільного ОП та $8,55 \pm 0,32$ мкмоль/л зв'язаного метаболіту.

Показники фракційного складу ОП сироватки крові хворих на РГЗ через 2 тижні після тотальної мастектомії і на початку ПТ характеризувалися переважанням фракції вільного метаболіту над фракцією зв'язаного, хоча ці відмінності не були вірогідні. Співвідношення вмісту вільного ОП в сироватці крові до вмісту зв'язаного знаходилося в межах донорської норми $1,35 \pm 0,077$ мкмоль/л (табл. 3.4).

Рівень сумарного ОП в порівнянні з контрольною групою мав тенденцію до підвищення (на 7,1 %).

Після проведення курсу ПТ у групі порівняння відбувалося вірогідне підвищення вмісту всіх сироваткових фракцій ОП (на 25–45 % відносно норми, $P < 0,05$). При цьому переважало збільшення кількості зв'язаного ОП – на 45,6 % по відношенню до показників донорської групи і на 35,6 % по відношенню до вихідних показників хворих на початок ПТ, відповідно ($P < 0,05$).

Таблиця 3.4

Вплив фотоманітної терапії на фракційний склад оксипроліну (ОП) в сироватці крові пацієток з РГЗ з радіоіндукованими ушкодженнями шкіри в результаті курсу променевого лікування

№ п/п	Показник	Здорові донори (n = 30)	Пацієнтки після тотальної мастектомії			
			Група порівняння (n = 10)		Основна група (ФМТ) (n = 16)	
			до променевої терапії	після променевої терапії	до променевої терапії	після променевої терапії
1	2	3	4	5	6	7
1	Вільний ОП мкмоль/л	$11,60 \pm$ $0,40$	$12,40 \pm$ $0,66^{*,\dagger}$	$14,57 \pm 0,49$	$12,48 \pm$ $0,59^{*,\dagger}$	$13,13 \pm$ $0,38$
2	Зв'язаний ОП мкмоль/л	$8,55 \pm$ $0,32$	$9,18 \pm$ $0,43^{*,\dagger}$	$12,45 \pm 0,50$	$9,57 \pm$ $0,78^{*,\dagger}$	$10,64 \pm$ $0,46$

Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4	5	6	7
3	Сумарний ОП мкмоль/л	20,14 ± 0,68	21,58 ± 0,91 *,†	27,00 ± 0,59	22,05 ± 1,01 *,†	23,77 ± 0,61
4	Відношення вільний/зв'язаний ОП, %	1,36 ± 0,032	1,35 ± 0,077 *,†	1,17 ± 0,072	1,30 ± 0,124 *,†	1,32 ± 0,071

Примітки:

1. * – вірогідність відмінностей між групою порівняння та групою здорових донорів ($p < 0,05$);
2. † – вірогідність відмінностей між групою до та після променевої терапії ($p < 0,05$).

Фракція вільного ОП також достовірно збільшувалася не тільки по відношенню до нормальних значень, але і до показників вільного ОП в післяопераційний період. При цьому відношення вмісту вільного ОП в сироватці крові до вмісту зв'язаного знижувалося на 14,0 % ($P < 0,05$).

Зміни у вмісті фракцій досліджуваних метаболітів ОП відбувалися на тлі збільшення сумарної концентрації ОП в сироватці крові на 27,0 % відносно показників до ПТ і на 34,1 % відносно показників групи донорів ($P < 0,05$). Подібна картина може свідчити про активацію метаболізму колагену в опроміненій шкірі, причому як розпаду, так і синтезу даного білку. Проте, зменшення відношення вільного ОП до зв'язаного вказує все-таки на превалювання процесів синтезу і накопичення колагену.

В основній групі хворих, які отримували ФМТ, подібних змін не спостерігалось. Проведення ФМТ вірогідно зменшувало інтенсивність метаболізму колагену. Особливо це стосувалося процесів формування нових молекул колагену, про що свідчить більш низький вміст як вільного ОП (на 12,4 %, $P < 0,05$), так і зв'язаного ОП (на 21,2 %, $P < 0,05$) в сироватці крові хворих основної групи по відношенню до такого ж у пацієнток групи порівняння. Водночас і рівень сумарного ОП був у межах вихідних значень до променевої і фотоманітної терапії – $22,05 \pm 1,01$ і $23,77 \pm 0,61$ мкмоль/л відповідно, $P > 0,05$, та був вірогідно нижчий за такий у контролі ($P > 0,05$).

Відношення вільного ОП до зв'язаного в хворих з ФМТ також відновлювалося до первинних значень. Тобто, активація метаболізму колагену в

опроміненій шкірі в хворих з ФМТ мала місце, проте її інтенсивність була значно нижчою, ніж у групі порівняння, зокрема інтенсивність синтезу і накопичення колагену шкіри.

Для характеристики стану міжклітинного матриксу було проведено дослідження вмісту ГАГ та їх фракційного складу, сумарних хондроїтинсульфатів (ХС) і вміст позаклітинних білків глікопротеїнів (ГП).

Отримані дані наведені у таблицях 3.5 і 3.6.

Згідно з даними табл. 3.5, на початок ПТ вміст сумарних ГАГ і ХС в сироватці крові пацієток обох груп істотно не відрізнявся від нормальних показників і знаходився у межах референтних значень. Проте, рівень сироваткових ГП в усіх хворих був значно підвищений (приблизно у 2 рази, $P < 0,05$). Подібний підвищений рівень ГП вказує на персистенцію гострої запальної реакції після перенесеної мастектомії.

Таблиця 3.5

Вплив фотомагнітної терапії на показники міжклітинного матриксу сполучної тканини в сироватці крові хворих на РГЗ з радіоіндукованими пошкодженнями шкіри в результаті курсу променевого лікування

Показник	Група порівняння n = 10		Основна група (ФМТ) n = 16		Здорові донори n = 30	Межі референтних норм
	до ПТ	після ПТ	до ПТ	після ПТ		
Сумарні ГАГ, г/л	0,121 ± 0,013 ^{*,†}	0,321 ± 0,020	0,131 ± 0,021 ^{*,†}	0,128 ± 0,020	0,125 ± 0,018	0,107 – 0,143
Сумарні хондроїтинсульфати, г/л	0,088 ± 0,009 ^{*,†}	0,155 ± 0,019	0,091 ± 0,007 ^{*,†}	0,086 ± 0,014	0,076 ± 0,004	0 – 0,1
Глікопротеїни, г/л	1,26 ± 0,180 ^{*,†}	1,950 ± 0,143	1,095 ± 0,176 ^{*,†}	1,135 ± 0,129	0,60 ± 0,090	0,39 – 0,69

Примітки:

1. * – вірогідність відмінностей між групою порівняння та групою здорових донорів ($p < 0,05$);
2. † – вірогідність відмінностей між групою до та після променевої терапії ($p < 0,05$).

Після курсу ПТ у хворих групи порівняння відзначалося різке підвищення всіх досліджуваних показників основної речовини сполучної тканини. Так, рівень

сумарних ГАГ підвищувався в 2,5 рази у порівнянні з нормою і початковими значеннями до ПТ ($P < 0,05$), рівень сумарних ХС також підвищувався в 2 рази ($P < 0,05$). Первинно підвищений рівень ГП збільшувався ще більше і перевищував нормальні показники вже в 3, а початкові – в 1,5 рази ($P < 0,05$). Це вказує як на посилення запальних реакцій в опроміненій шкірі, так і на початок розвитку в сполучній тканині деструктивних процесів.

У пацієток основної групи, що отримували в період проведення курсу ПТ фотомагнітне опромінювання, вміст усіх цих метаболітів міжклітинного матриксу практично не змінювався і зберігався у межах початкових значень. Так, показники сумарних ГАГ і ХС відповідали нормальним, а рівень ГП залишався підвищеним щодо норми приблизно удвічі ($P < 0,05$) та не змінювався щодо початкового значення.

Аналіз змін фракційного складу ГАГ (табл. 3.6) свідчить про те, що в пацієток групи порівняння, які проходять курс ПТ, раніш відзначене різке підвищення вмісту сумарних ГАГ відбувалося переважно за рахунок I та II фракцій, що містять хондроїтинсульфати 6 та 4. Особливо різко підвищувався вміст II фракції, що містить переважно ХС-4, – в 3,2 рази ($P < 0,05$), а також рівень I фракції (ХС-6) – в 2,6 рази від норми та вихідного рівня ($P < 0,05$). Рівень III фракції (кератан-, дерматан, гепарансульфат та ін.) збільшувався, але меншою мірою (на 24,0 %, $P < 0,05$).

У пацієток основної групи, що отримували в період опромінювання ФМТ, фракційний склад ГАГ практично не змінювався за період проведення ПТ, відповідно цьому всі показники вмісту фракцій, що вивчалися, після ПТ були вірогідно нижче в 2–4 рази аналогічних показників у групі порівняння ($P < 0,05$).

Таким чином, всі вивчені показники метаболізму сполучної тканини свідчать про ефективність ФМТ, що проводиться, для збереження нормального стану шкіри та підтримування оптимального співвідношення катаболічних і анаболічних процесів при ушкоджувальній дії радіаційного чинника.

Таблиця 3.6

Вплив фотоманітної терапії на фракційний склад ГАГ сироватки крові хворих на РГЗ з радіоіндукованими ушкодженнями шкіри в результаті курсу променевого лікування

Показник	Група порівняння n = 10		Основна група (ФМТ) n = 16		Здорові донори n = 30	Межі референтних норм	
	до ПТ	після ПТ	до ПТ	після ПТ			
Сумарні ГАГ, г/л	0,121 ± 0,013 *, [†]	0,321 ± 0,020	0,131 ± 0,021 *, [†]	0,128 ± 0,020	0,125 ± 0,018	0,107–0,143	
Фракції ГАГ, г/л	I	0,062 ± 0,006 *, [†]	0,160 ± 0,016	0,075 ± 0,008 *, [†]	0,071 ± 0,007	0,060 ± 0,008	0,052–0,068
	II	0,038 ± 0,009 *, [†]	0,130 ± 0,003	0,033 ± 0,010 *, [†]	0,032 ± 0,009	0,040 ± 0,006	0,034–0,046
	III	0,021 ± 0,006 *, [†]	0,031 ± 0,004	0,024 ± 0,005 *, [†]	0,025 ± 0,006	0,025 ± 0,004	0,021–0,029

Примітки:

1. * – вірогідність відмінностей між групою порівняння та групою здорових донорів ($p < 0,05$);
2. [†] – вірогідність відмінностей між групою до та після променевої терапії ($p < 0,05$).

У першу чергу, це відноситься до метаболізму колагену. Збільшення вмісту вільного ОП в сироватці крові хворих групи порівняння демонструє руйнування сполучної тканини в зоні опромінювання, а майже 1,5-разове збільшення концентрації зв'язаного і сумарного ОП може свідчити про активацію процесів утворення колагену із загрозою розвитку фіброзу. Знижений рівень вільного ОП у хворих після ПТ з ФМТ свідчить про зменшення активності дегенеративних змін шкіри у місці дії іонізуючої радіації.

Отримані дані також показують, що в післяопераційний період, тобто перед призначенням ПТ, у хворих на РГЗ ще зберігаються симптоми запалення, на що вказує підвищений удвічі рівень ГП сироватки крові. Відсутність підвищення у цей же час рівня ГАГ і ХС, тобто їх нормальний рівень у сироватці крові, свідчить про відсутність на даному етапі лікування достатньо великих вогнищ деструкції сполучної тканини. Очевидно, певним чином така картина могла сформуватися

після видалення основного джерела цих метаболітів – злоякісної пухлини.

Проведення курсу ПТ у пацієнок групи порівняння значно підсилювало запальні реакції, про що свідчило різке підвищення рівня сироваткових ГП, а також ініціювало деструктивні процеси в шкірі та підлеглих тканинах в опромінених зонах. На активацію деструктивних процесів вказував різкий підйом рівня основних метаболітів міжклітинного матриксу сполучної тканини – сумарних сироваткових ГАГ і ХС – в 2–3 рази щодо первинних значень. При цьому істотно змінювався й фракційний склад ГАГ у бік збільшення сульфатованих сполук (хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-сульфат), які зосереджені переважно в сполучній тканині шкіри.

У пацієнок основної групи, які паралельно з курсом ПТ отримували ФМТ, подібних змін у метаболізмі сполучної тканини не відбувалося. Спочатку підвищений до ПТ рівень сироваткових ГП практично не змінювався, тобто опромінювання принаймні не підсилювало наявні запальні реакції в організмі. Також в пацієнок основної групи з ФМТ не було помітних змін у вмісті метаболітів міжклітинного матриксу, тобто після курсів ПТ сумісно з ФМТ, рівні ГАГ і ХС істотно не відрізнялися від початкових.

Відомо, що при деструктивних процесах у сполучній тканині, руйнування міжклітинного матриксу з втратою ГАГ призводить також і до деструкції колагенових волокон, їх набряку і дегенерації. Падає доступність колагену для колагенолітичних ферментів (специфічних металопротеїназ), що порушує процеси ремоделювання в грануляційній і далі рубцевій тканині [110-112].

Подібні порушення в стані міжклітинного матриксу і колагенових волокон, що знаходяться у ньому, в опроміненій шкірі і підлеглих тканинах можуть призводити до фібротизації шкіри. Цей ефект посилюється неконтрольованою активацією синтезу і накопичення колагену в опроміненій шкірі і підлеглих тканинах [113, 114].

Усі ці явища призводять до фібротизації сполучної тканини, а в пізніші періоди – до розвитку променевого фіброзу шкіри. У цьому випадку фотомагнітна дія на шкіру хворих на РГЗ в період проведення ПТ знижує ступінь втручання

радіаційного чинника в метаболізм колагену шкіри, запобігає її фібротизації і розвитку передумов для виникнення променевого фіброзу. Таким чином, ФМТ може стати перспективним методом профілактики променевого фіброзу шкіри для хворих, які одержують ПТ.

3.3 Вплив фотомагнітної терапії на стан системи гемостазу у хворих на РГЗ під час променевого лікування

Вивчення закономірностей змін у системі гемостазу онкологічних хворих на різних етапах захворювання, а також у процесі комбінованої протиракової терапії, розробка способів запобігання розладів у системі гемостазу є актуальними і важливими дослідженнями.

Метою даного фрагменту роботи було дослідження стану згортальної системи крові хворих на РГЗ після радикальної мастектомії під час ПТ при застосуванні розробленої схеми ФМТ для запобігання виникнення пізніх МПУ.

Показники системи гемостазу у досліджуваних пацієнтів наведені в таблиці 3.7.

Наведені дані свідчать, що вихідні показники (до початку ПТ), які характеризують стан згортальної системи крові, значно відрізнялися від донорських, які були прийняті за норму у межах даного дослідження. При цьому вихідні показники в обох обстежених групах хворих (порівняння і основній) практично не мали між собою вірогідних відмінностей. При первинному обстеженні пацієток (до початку ПТ) ми реєстрували зсуви коагуляційного потенціалу крові у бік гіперкоагуляції зі значним скороченням часу перебігу усіх фаз згортання крові. А саме, показники T_1 і T , які відбивають хронометричні параметри початку, перебігу та завершення формування повноцінного фібринового згустку, були скорочені в усіх хворих при первинному обстеженні на 37 – 45 % (показник T_1) та на 53 – 59 % для показника T ($P < 0,05$). Слід зазначити, що показник A_0 , зменшення або збільшення значень якого вказує на ущільнення чи розпушення згустків фібрину, складав 60 – 70 % від рівня значень

норми, тобто згустки фібрину відзначалися надмірною щільністю. При цьому у пацієнток обох груп при першому обстеженні не спостерігалось компенсаторного збільшення фібринолітичної активності крові, навпаки, показник СФА був нижче рівня норми приблизно на 40 % (на 48 % у групі порівняння, та на 32 % в основній).

Водночас у цих хворих виявлялися ознаки процесів паракоагуляції, що є показником можливості розвитку ДВЗ-синдрому. Тобто позитивний етаноловий тест на частоту зустрічаємості РФМК і ПДФ спостерігався у 67 % (група порівняння) та 78 % (основна група) обстежених хворих відповідно, при тому, що у здорових донорів цей тест негативний.

Ці факти вказують на глибокі порушення у системі згортання крові обстежених після хірургічного втручання, які можуть бути підставою до більш серйозних розладів, навіть до виникнення ДВЗ-синдрому або тромбоемболічних ускладнень.

При проведенні стандартного курсу ПТ у хворих групи порівняння зберігалася та ж сама спрямованість коагуляційного потенціалу крові, а саме, схильність до гіперкоагуляції. Показники T_1 і T майже не відрізнялися від початкових і складала усього 69 і 55 % від рівня показників донорів відповідно ($P < 0,05$). Пригніченою залишалася фібринолітична активність – на 25 % нижче нормальних значень ($P < 0,05$). В той же час етаноловий тест вказував на часткове зменшення загрози виникнення тромбоемболічних ускладнень, тому що частота зустрічаємості розчинних фібрин-мономерних комплексів та продуктів деградації фібрину знижувалася порівняно з вихідним рівнем – 44,0 проти 67,0 % .

Все це свідчить, що у даного контингенту хворих чотирьохтижневий курс ПТ хоча й не викликає суттєвого погіршення стану системи гемостазу, але, як і у післяопераційному періоді, все ж існує (зберігається) загроза розвитку тромбоемболічних ускладнень.

Таблиця 3.7

Вплив фотомагнітної терапії на показники системи гемостазу хворих на РГЗ під час променевої терапії

Показник	Донори n = 30	Група порівняння n = 10		Фотомагнітна терапія n = 16	
		Вихідний рівень	Після ПТ	Вихідний рівень	Після ПТ
T ₁ , хв.	4,18 ± 0,35	2,64 ± 0,48*	2,87 ± 0,37*	2,31 ± 0,17*	3,55 ± 0,22**
T, хв	4,81 ± 0,44	1,97 ± 0,48*	2,64 ± 0,47*	2,27 ± 0,19*	3,89 ± 0,29**
A ₀ , ум. од.	0,100 ± 0,008	0,07 ± 0,01*	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01*	0,100 ± 0,001
СФА, ум. од.	27,62 ± 0,69	14,26 ± 1,67*	20,83 ± 1,57*	18,74 ± 1,16*	25,21 ± 1,29
ЕТ (частота зустрічальності), %	0	67,0 ± 17,0*	44,0 ± 18,0*	78,0 ± 10,0*	17,0 ± 10,0**

Примітки:

- 1) * – відмінності вірогідні відносно показників донорів;
- 2) ** – відмінності вірогідні відносно показників контролю.

Проведення під час променевого лікування сеансів ФМТ з метою профілактики виникнення пізніх променевих ушкоджень шкіри продемонструвало, що використана нами схема ФМТ (оптичне випромінення застосованих ділянок спектра у поєднанні з дією постійних магнітних полів) суттєво впливало на систему гемостазу.

Так, у групі хворих, які отримували паралельно з ПТ сеанси ФМТ (основна група), ми спостерігали суттєве відновлення майже усіх показників коагуляційної ланки системи гемостазу. А саме, показник T_1 , хоча й не сягав рівня нормальних значень (він складав 85 % від рівня величин, притаманних здоровим донорам), все ж на 50 % перевищував вихідний рівень: $(3,55 \pm 0,22)$ хв проти $(2,31 \pm 0,17)$ хв на початку фототерапії ($P < 0,05$). Також дія ФМТ покращувала і кінцеві стадії згортання крові – показник T при останньому обстеженні був усього на 19 % нижче від рівня донорського контролю (на початку дослідження він складав 47 %). Так само й збільшення показника A_0 до рівня донорських значень вказувало на поліпшення функціональних якостей фібрину. Крім цього, у даній групі хворих відбувалося повне відновлення фібринолітичної активності – значення показника СФА не відрізнялися від аналогічних у групі донорів.

У крові хворих основної групи також зустрічалися провісники гострого ДВЗ-синдрому – РФМК і ПДФ, але у досить невеликій кількості – етаноловий тест був позитивним у 17 % випадків ($P < 0,05$).

Усі отримані дані свідчили про позитивний вплив розробленої схеми ФМТ на стан системи гемостазу у хворих на РГЗ під час проведення ПТ. Вихідний рівень гіперкоагуляції, притаманний цим хворим, значно знижувався, при цьому фібринолітична ланка гемостазу нормалізувалася.

Все це мінімізувало ризик розвитку ДВЗ-синдрому в обстежених хворих.

Таким чином, можна стверджувати, що ФМТ, яку використовували з метою профілактики розвитку МПУ шкіри, у цілому не чинила ніякої шкідливої дії на стан системи гемостазу, а навпаки позитивно впливала на згортання крові,

значно покращуючи його та усуваючи гемостатичні розлади, характерні для даного контингенту хворих.

Такий ефект ФМТ на стан згортання крові хворих можна пояснити сумациєю позитивної дії на організм двох фізичних факторів: світлового випромінення оптичного діапазону та постійного магнітного поля.

Ефекти оптичної дії реалізуються у вигляді поліпшення реологічних властивостей крові, відновлення функцій її клітин, тобто поліпшення мікроциркуляції і, таким чином, трофіки та детоксикації тканин.

Дія постійних магнітних полів низької інтенсивності підсилює позитивний ефект фотонної терапії, тому що магнітні поля проникають практично без перешкод через різні тканини на велику глибину з незначною втратою енергії та впливають майже на кожну клітину організму людини. Існують дані, що магнітні поля, застосовувані у лікувальних дозах, покращують мікроциркуляцію крові, ліквідують стаз еритроцитів в капілярах [119-122]. Автори пояснюють позитивну дію магнітного поля тим, що прикладання магнітної сили ніби «струшує» еритроцити та долає їх тенденцію до злипання і утворення агрегатів.

Таким чином, можна зазначити, що отримані нами дані узгоджуються з даними літератури і запропонований нами метод ФМТ з метою профілактики МПУ та фіброзу шкіри чинить позитивну дію на стан згортальної системи крові у хворих на РГЗ під час проведення ПТ.

Проведені дослідження також свідчать про те, що в онкологічних хворих, зокрема у хворих на РГЗ, мають місце суттєві розлади у системі гемостазу зі зсувом у бік гіперкоагуляції та існує можливість розвитку ДВЗ-синдрому впродовж тривалого часу, що треба ураховувати при плануванні консервативної терапії.

РОЗДІЛ 4

МІСЦЕВІ ТА СИСТЕМНІ ЕФЕКТИ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ТА КОМБІНОВАНОЇ ТЕРАПІЇ (ФДТ + PRP) ПРИ ЛІКУВАННІ ПРОМЕНЕВИХ ВИРАЗОК ШКІРИ У ЩУРІВ

4.1 Місцеві ефекти впливу ФДТ та комбінованого методу ФДТ + PRP при лікуванні променевих виразок у щурів

4.1.1 Особливості перебігу та макроскопічна характеристика променевих виразок шкіри у щурів

В проведеному експериментальному дослідженні було вивчено динаміку макроскопічних ознак перебігу МПУ щурів при локальному іонізуючому опроміненні з подальшим інфікуванням МПУ, а також після лікування за допомогою ФДТ та комбінованої місцевої терапії ФДТ + PRP. Методику проведення лікувальних заходів наведено в розділі 2.

Макроскопічні ознаки перебігу МПУ в групах порівняння та основній групі з лікуванням ФДТ наведено у табл. 4.1.

На підставі аналізу наведених даних, отримані значні результати динаміки макроскопічних ознак розвитку променевої виразки, які показали, що в усіх обстежених групах піддослідних тварин локальне рентгенівське опромінення ділянки стегна в дозі 85,0 Гр викликало розвиток променевих ушкоджень шкіри.

Загальний аналіз усіх отриманих даних свідчив, що локальне рентгенівське опромінення стегна щурів у дозі 85,0 Гр у 75 % тварин викликало розвиток променевих виразок. Спонтанне загоювання їх було досить повільним та не призводило до повного зникнення променевих дефектів майже у половини тварин з відновленням шерстного покриву лише в 33,0 % випадків.

Таблиця 4.1

Вплив фотодінамічної терапії на динаміку перебігу місцевого променевого ушкодження у експериментальних тварин з локальним опроміненням у дозі 85,0 Гр. та інфікуванням ділянки променевого дефекту *S. aureus*

Група	Показники, % випадків	Термін спостереження після опромінювання, доба		Термін спостереження після інфікування / після опромінювання, доба				
		3	7	7 – 14	14– 21	21 – 28	30 – 37	45– 52
1	2	3	4	5	6	7	8	9
ЛО 85,0 Гр. n = 25	Еритема та набряк, %	96,0 ± 2,0	100,0	100,0	100,0	100,0	33,0 ± 14,0 *	33,0 ± 21,0 *
	Сухий дерматит, %	0	50,0 ± 5,0	17,0 ± 7,0 *	12,0 ± 7,0 *	11,0 ± 8,0 *	0 *	0 *
	Вологий дерматит, %	0	45,0 ± 6,0	20,0 ± 7,0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
	Геморагічні кірки, %	0	70,0 ± 5,0	70,0 ± 9,0	75,0 ± 9,0	61,0 ± 12,0	17,0 ± 11,0 *	17,0 ± 17,0 *
	Геморагічний некроз, %	0	32,0 ± 5,0	83,0 ± 7,0 *	83,0 ± 8,0 *	72,0 ± 11,0 *	58,0 ± 15,0	17,0 ± 17,0
	Відновлення шерстного покриву, %	0	0	0	0	17,0 ± 9,0	33,0 ± 14,0 *	67,0 ± 21,0 *

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
ЛО 85,0 Гр. + S.aureus n = 25	Еритема та набряк, %	96,0 ± 2,0	100,0	100,0	100,0	100,0	83,0 ± 11,0*,**	50,0 ± 22,0 *
	Сухий дерматит, %	0	50,0 ± 5,0	0 *,**	0 *	0 *	0 *	0 *
	Вологий дерматит, %	0	45,0 ± 6,0	37,0 ± 9,0	8,0 ± 6,0 *	12,0 ± 8,0 *	0 *	0 *
	Геморагічні кірки, %	0	70,0 ± 5,0	83,0 ± 7,0	92,0 ± 6,0 *	89,0 ± 8,0	75,0 ± 13,0**	50,0 ± 22,0**
	Геморагічний некроз, %	0	32,0 ± 5,0	83,0 ± 7,0 *	92,0 ± 6,0 *	89,0 ± 8,0 *	75,0 ± 13,0 *	50,0 ± 22,0**
	Відновлення шерстного покриву, %	0	0	0	0	0	25,0 ± 13,0 *	33,0 ± 21,0*,**
ЛО 85,0 Гр + S. aureus + ФДТ n = 25	Еритема та набряк, %	96,0 ± 2,0	100,0	50,0 ± 9,0 *, Δ	21,0 ± 8,0 *, Δ	17,0 ± 9,0 *, Δ	0 *, Δ	0 *, Δ
	Сухий дерматит, %	0	50,0 ± 5,0	27,0 ± 8,0 *, Δ	62,0 ± 10,0 Δ	0 *	0 *	0 *

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
ЛО 85,0 Гр + S. aureus + ФДТ n = 25	Вологий дерматит, %	0	45,0 ± 6,0	17,0 ± 7,0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
	Геморагічні кірки, %	0	70,0 ± 5,0	40,0 ± 9,0 *, Δ	42,0 ± 10,0 *, Δ	28,0 ± 11,0 *, Δ	17,0 ± 11,0 *, Δ	0 *, Δ
	Геморагічний некроз, %	0	32,0 ± 5,0	40,0 ± 9,0 Δ	0 *, Δ	0 *, Δ	0 *, Δ	0 *, Δ
	Відновлення шерстного покриву, %	0				12,0 ± 7,0 *	28,0 ± 11,0 *, Δ	66,0 ± 14,0 *, Δ

Примітки:

1. * - відмінності вірогідні у порівнянні з показниками вихідного рівня – 7 д (P < 0,05).
2. ** - відмінності вірогідні між показниками групи з локальним опроміненням і групи з локальним опроміненням та інфікуванням.
3. Δ – відмінності вірогідні між показниками групи з локальним опроміненням та інфікуванням і аналогічної групи з ФДТ.
4. ЛО – локальне опромінення.

Додаткове інфікування МПУ штамми мікроорганізмів *S. aureus* негативно впливало на динаміку перебігу МПУ, що виявлялося у збільшенні частоти виникнення променевих виразок (до 92,0 %) та відсутності повного спонтанного загоювання у жодному випадку.

Застосування ФДТ в інфікованій групі з МПУ справляло позитивний ефект на динаміку перебігу променевих дефектів. Фотодинамічна дія прискорювала темпи загоювання інфікованих МПУ, це відзначалося практично повним загоюванням виразок наприкінці експерименту. При цьому частота виникнення променевих виразок в обох групах була удвічі меншою, ніж у групах з інфікуванням без ФДТ. Візуально помітні ознаки регенерації у групах з ФДТ розвивалися вже на 14-ту добу після лікування, тоді як у групах порівняння з інфікуванням вони з'являлися тільки наприкінці досліджень.

В цілому, можна зробити висновок, що ФДТ справляла значну лікувальну та профілактичну дію на патологічні процеси в опроміненій шкірі, яку можна пояснити як ефективним усуненням обтяжуючого перебіг МПУ фактора – мікробної контамінації, так і безпосередньою дією ФДТ на прискорення процесів регенерації з використанням червоного світла. Відомі ефекти світла з довжиною хвилі 630-660 нм, а саме – прискорення репарації та загоєння променевої виразки, поліпшення мікроциркуляції, реологічних властивостей крові та ін. [123,124, 125, 126].

4.1.2 Показники місцевого антимікробного ефекту після ФДТ на бактеріально інфіковані *Staphylococcus aureus* променеві виразки шкіри у щурів

Розвиток локальної інфекції значно ускладнює лікування променевих ушкоджень шкіри. Ця проблема виникає практично завжди при пошкодженні епідермісу: при вологому (ексудативному) епідерміті і дерматиті, а особливо – в променевих виразках. Встановлено, що мікробна флора променевих ушкоджень шкіри містить широкий спектр збудників у різних асоціаціях, які,

як правило, не чутливі до більшості антибіотиків [22].

Оцінку ефективності ФДТ здійснювали, коли сеанс ФДТ проводили через добу після інфікування променевого ушкодження шкіри.

Цей експеримент проведено на щурах 2 – 4 груп (по 25 щурів у кожній групі). Результати наведені у таблиці 4.2.

Результати мікробіологічних досліджень матеріалу з поверхні променевої виразки у дослідній групі тварин, яким проведена ФДТ, показали, що вже через 24 год після лікувальних заходів наставала повна елімінація музейного тест-штаму стафілококу (табл. 4.2). Досягнуті показники зберігались до кінця терміну експерименту – 30 діб після інфікування.

Проведені дослідження продемонстрували принципову можливість високої антибактеріальної активності ФДТ за розробленою схемою з використанням одного сеансу ФДТ, що підтверджує дані наукової літератури [31, 127].

Таблиця 4.2 – Вплив фотодинамічної терапії (ФДТ) на щільність мікробної колонізації у променевої виразці шкіри щурів після інфікування музейним штамом *S. aureus*

Група піддослідних тварин	Щільність мікробної колонізації (lg КУО / см ²) (M ± m)					
	Терміни спостереження					
	Через 24 год після інфікування	Через 24 год після ФДТ	3 д після інфікування	7 д після інфікування	14 д після інфікування	30 д після інфікування
1	2	3	4	5	6	7
Дослідна група Променева виразка + інфікування + ФДТ (n = 25)	7,62 ± 0,03	0	0	0	0	0
1 контрольна група Променева виразка + інфікування (n = 25)	7,61 ± 0,14	7,22 ± 0,23	6,03 ± 0,65*	6,60 ± 0,25*	6,44 ± 0,41*	6,18 ± 0,27*
2 контрольна група Променева виразка (n = 25)	0	0	0	0	0	0

Примітка. * – вірогідно відносно вихідного показника (через 24 год після інфікування).

4.1.3 Патоморфоз променевих виразок шкіри та підлеглих тканин у щурів при спонтанному загоснні, при застосуванні ФДТ та комбінованого місцевого лікування – ФДТ + PRP

При мікроскопічному та імуногістохімічному дослідженні шкіри та підлеглих м'яких тканин у щурів зі модельованою променевою виразкою шкіри встановлено, що променева виразка шкіри з 14-ої до 52-ої доби експерименту мала значні розміри. На 14-ту добу вона характеризувалася наявністю двох шарів (лейкоцитарно-некротичного шару та демаркаційного лейкоцитарного валу), на 21-шу та 30-ту добу – трьох шарів (також шару грануляційної тканини), на 37-му та 52-гу добу – чотирьох шарів (також шару сполучної тканини) (рис. 4.1–4.4).

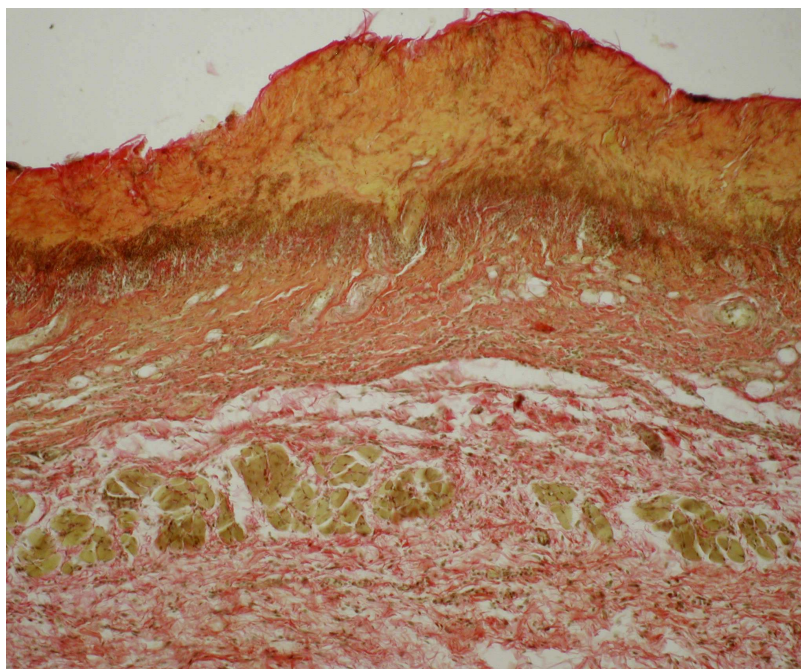


Рис. 4.1 Лейкоцитарно-некротичний шар та зона демаркації в рановій порожнині на 14-ту добу експерименту. Забарвлення пікрофуксином за Ван-Гізоном, $\times 100$

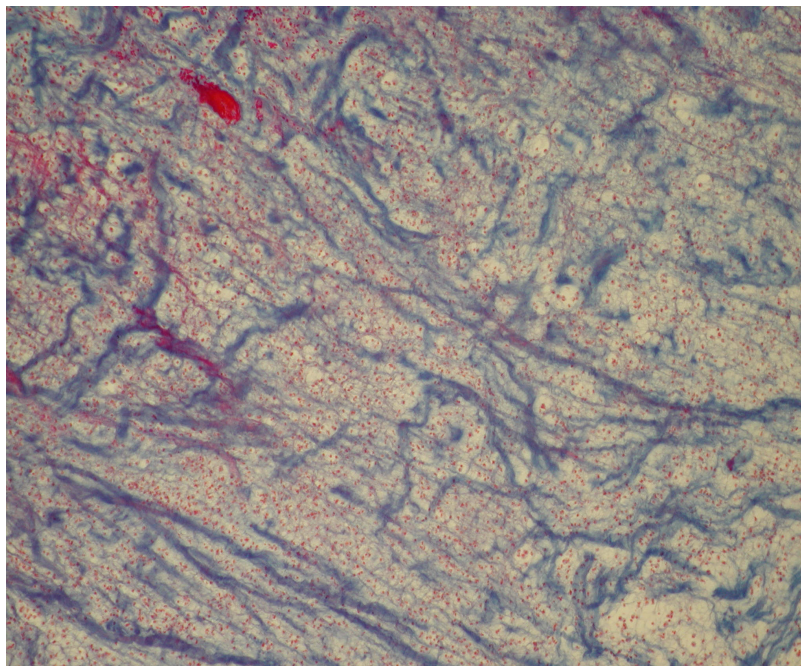


Рис. 4.2 Незріла грануляційна тканина з дна виразки на 21-шу добу експерименту. Забарвлення за Маллорі, $\times 100$

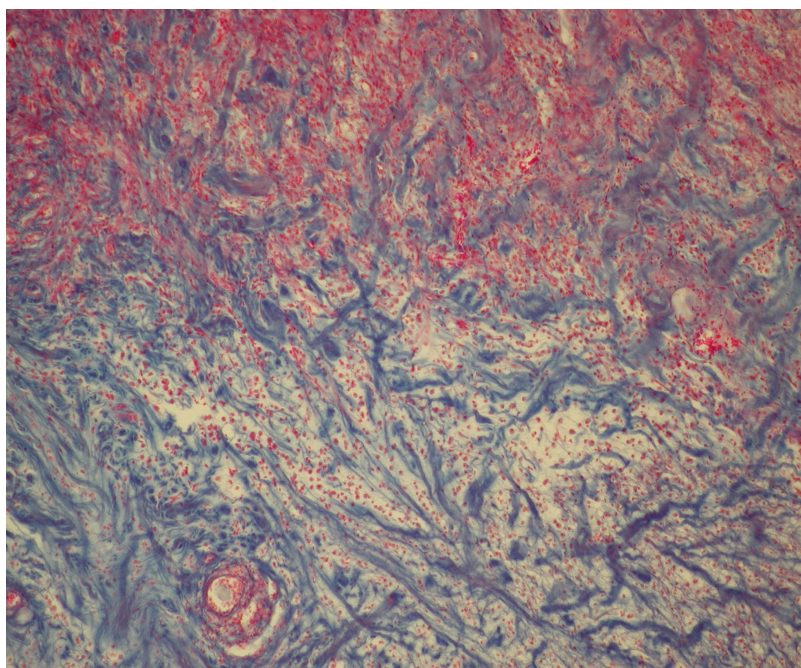


Рис. 4.3 Грануляційна тканина різного ступеня зрілості в порожнині виразки на 37-му добу експерименту. Забарвлення за Маллорі, $\times 100$

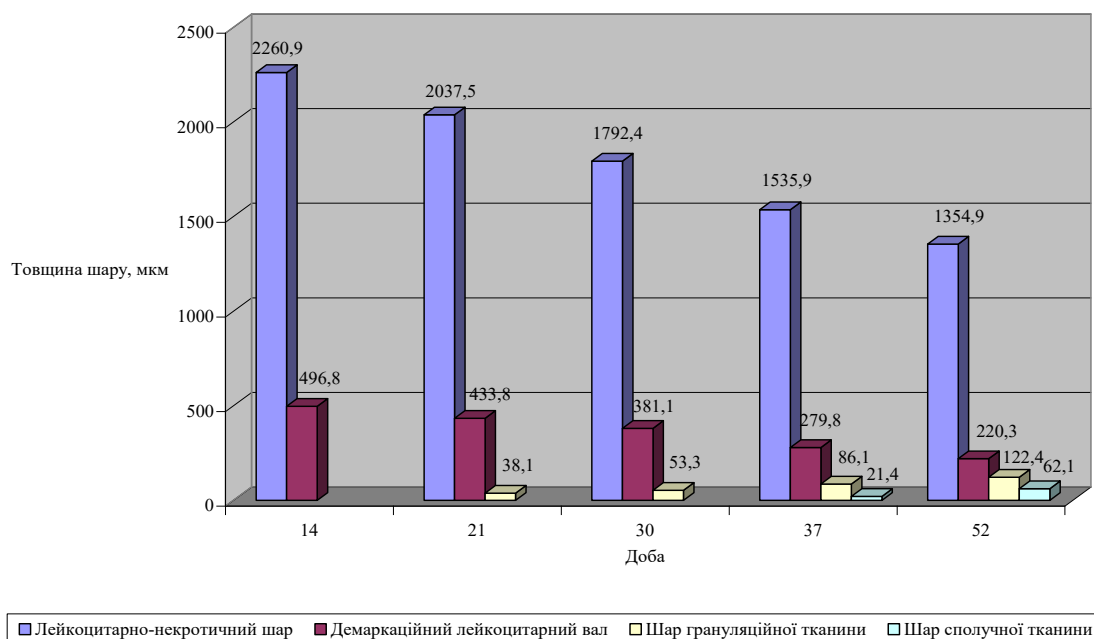


Рис. 4.4 Динаміка товщини шарів рани

З часом (зі збільшенням термінів експерименту) зменшувалася ($p < 0,05$) товщина лейкоцитарно-некротичного шару та зони демаркації і збільшувалася ($p < 0,05$) товщина шарів грануляційної та сполучної тканин. З 14-ої до 52-ої доби апоптотична і проліферативна активність в оточуючих виразковий дефект тканинах, а також в грануляційній та сполучній тканинах, які заповнювали порожнину дефекту, наростала ($p < 0,05$) (рис. 4.5–4.7).

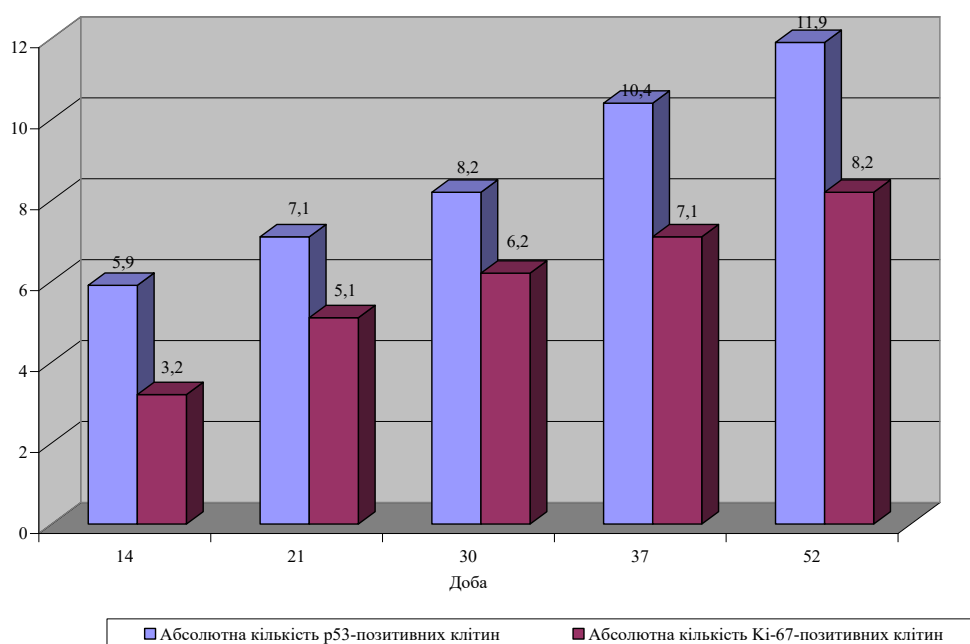


Рис. 4.5 Апоптотична і проліферативна активність в епідермісі

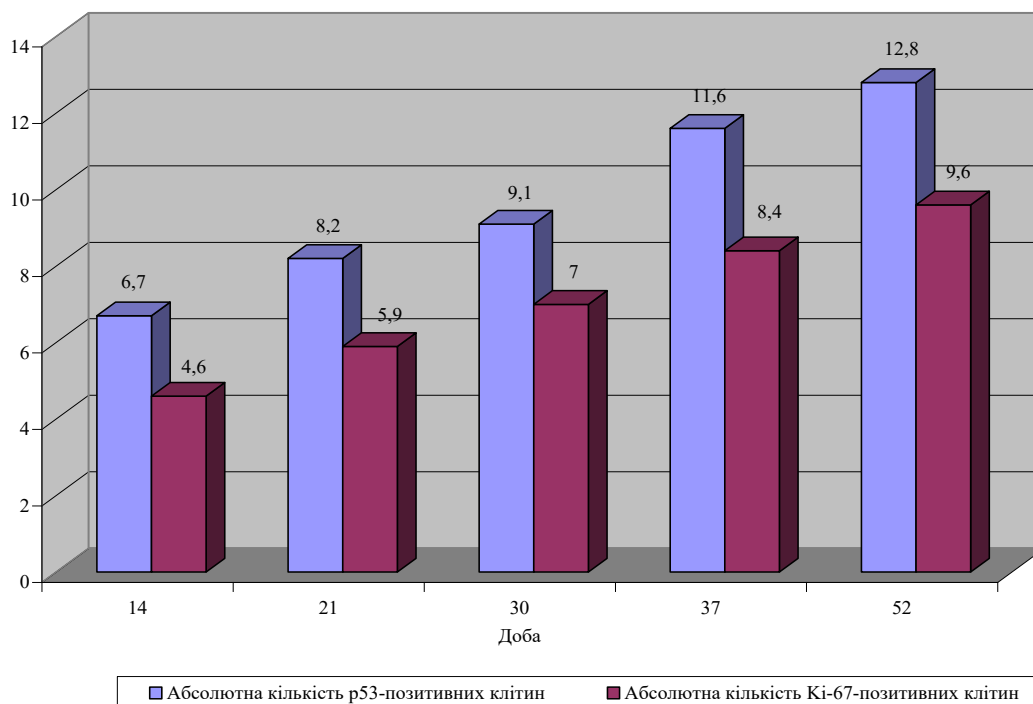


Рис. 4.6 Апоптотична і проліферативна активність в дермі, гіподермі та м'язовій тканині

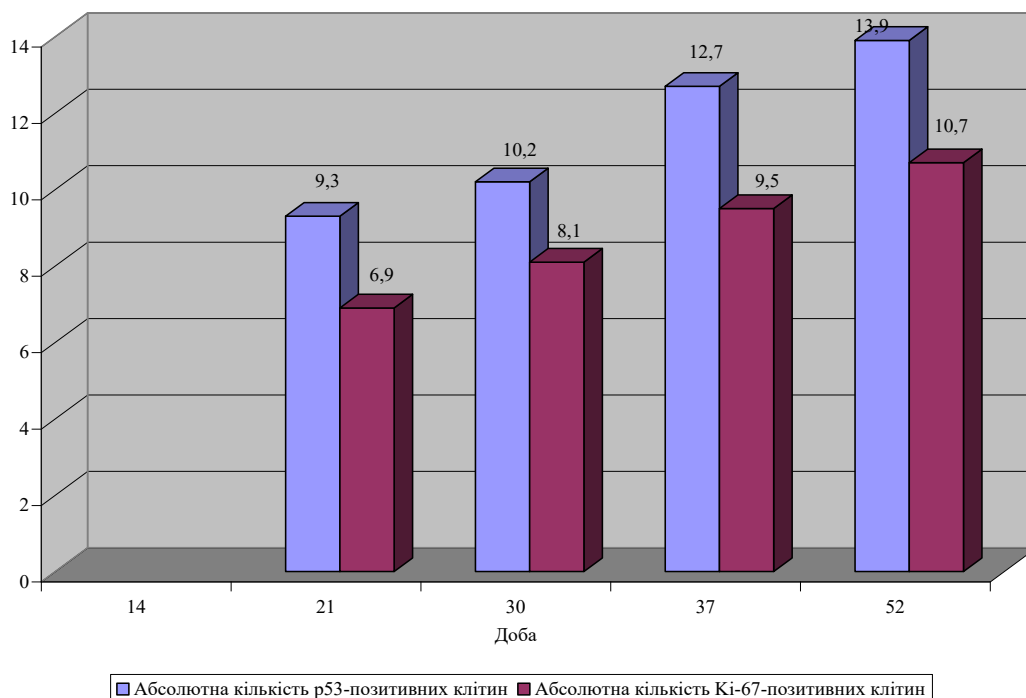


Рис. 4.7 Апоптотична і проліферативна активність в грануляційній та сполучній тканинах

Загоєння рани, як відомо, має три фази: 1 – фаза запалення, 2 – фаза регенерації, 3 – фаза реорганізації рубця [131].

Проведене експериментальне дослідження показало, що загоєння променевих виразок проходить всі вищевказані фази; променеві виразки є такими, що тривало не загоюються, з великими дефектами шкіри та підлеглих м'яких тканин, що зумовлено, з нашої точки зору, наступними фактами:

1. Пролонгованою у часі, або тривалою, фазою запалення;
2. Млявими процесами очищення рани від некротизованих тканин;
3. Сповільненими процесами утворення та дозрівання грануляційної тканини, поява якої відбувалася на 21-шу добу, а перетворення на сполучну тканину на 37-му добу.
4. Порушенням балансу між процесами апоптозу та проліферації (якщо в інтактній шкірі та підлеглих м'яких тканинах процеси проліферації переважали над процесами апоптозу, то в умовах розвитку променевої виразки, навпаки, процеси апоптозу переважали над проліферативними процесами).

По-перше, відомо, що епідерміс та клітинні елементи придатків шкіри беруть активну участь у процесах загоєння шкірних ран, що проявляється збільшенням їх проліферативного потенціалу і зниженням в них процесів апоптозу, потовщенням епітеліального пласту та утворенням ним акантотичних вростань у підлеглу тканину дерми.

Із занурювальним ростом епітелію в пренатальному онтогенезі пов'язане утворення шкірних дериватів, тому поява здатності до утворення випинань в епідермісі, що регенерує, розцінюється багатьма вченими як реалізація морфогенетичних потенцій ранового епідермісу в нових умовах [132]. В нашому дослідженні, враховуючи активні апоптотичні процеси та низькі проліферативні процеси клітинних елементів, епідерміс в крайових відділах рани проліферував слабо, лише на 37-му добу було виявлене його потовщення за рахунок гіперпластичних процесів, а на 52-гу добу –

потовщення та утворення ним поверхневих акатонтичних вrostань у підлеглу дерму.

По-друге, основний результат регенерації має бути спрямований не лише на закриття ранового дефекту, а й на нормалізацію сполучнотканинного компонента, тому набуває особливого значення потенціал основних клітин сполучної тканини, які складають фібробластичний диферон [133]. Відомо, що в процесах загоєння збалансована активізація проліферативного та апоптотичного потенціалу фібробластів може сприяти органотипічній регенерації [134]. Надмірна апоптотична активність клітин фібробластичного ряду в променевих виразках може зумовити, з нашої точки зору, виявлені при оглядовій мікроскопії та морфометричному дослідженні, мляві процеси утворення та дозрівання грануляційної тканини. Пригнічення проліферативних процесів клітинних елементів на тлі активізації апоптотичного потенціалу має місце в морфогенезі утворення виразок та ерозій.

По-третє, макрофаги – важливі клітини фази запалення, оскільки, окрім бактерицидної функції, вони здатні секретувати цитокіни та фактори росту, необхідні для проліферативної фази загоєння. Макрофаги також можуть вивільнювати протеолітичні ферменти, які очищають рану [135]. Відмічена нами надмірна апоптотична активність клітин макрофагального ряду на тлі їх низького проліферативного потенціалу може зумовити, по-перше, мляві процеси очищення рани від некротизованих тканин, а по-друге – затримку проліферації фібробластів та нестачу продукції грануляційної тканини.

При моделюванні інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри та мікроскопічному та імуногістохімічному дослідженні відзначено, що інфікована променева виразка шкіри та підлеглих м'яких тканин з 14-ої до 52-ої доби експерименту теж характеризувалася великими розмірами. На 14-ту та 21-шу добу спостерігалася наявність двох шарів – лейкоцитарно-некротичного шару та демаркаційного лейкоцитарного валу, а на 30-ту, 37-му та 52-гу добу – трьох шарів (також шару грануляційної тканини).

Аналізуючи динаміку зміни морфометричних показників (рис. 4.8), було відзначено, що на 14-ту та 21-шу добу товщина лейкоцитарно-некротичного шару та зони демаркації не змінювалася ($p > 0,05$), однак на 30-у, 37-му та 52-гу добу вона зменшувалася ($p < 0,05$), а товщина шару грануляційної тканини збільшувалася ($p < 0,05$). З 14-тої до 52-ої доби апоптотична активність клітинних елементів тканин, оточуючих виразку, а також грануляційної тканини, розташованої в рановій порожнині, наростала ($p < 0,05$), а проліферативна активність не змінювалася ($p > 0,05$) (рис. 4.9–4.11).

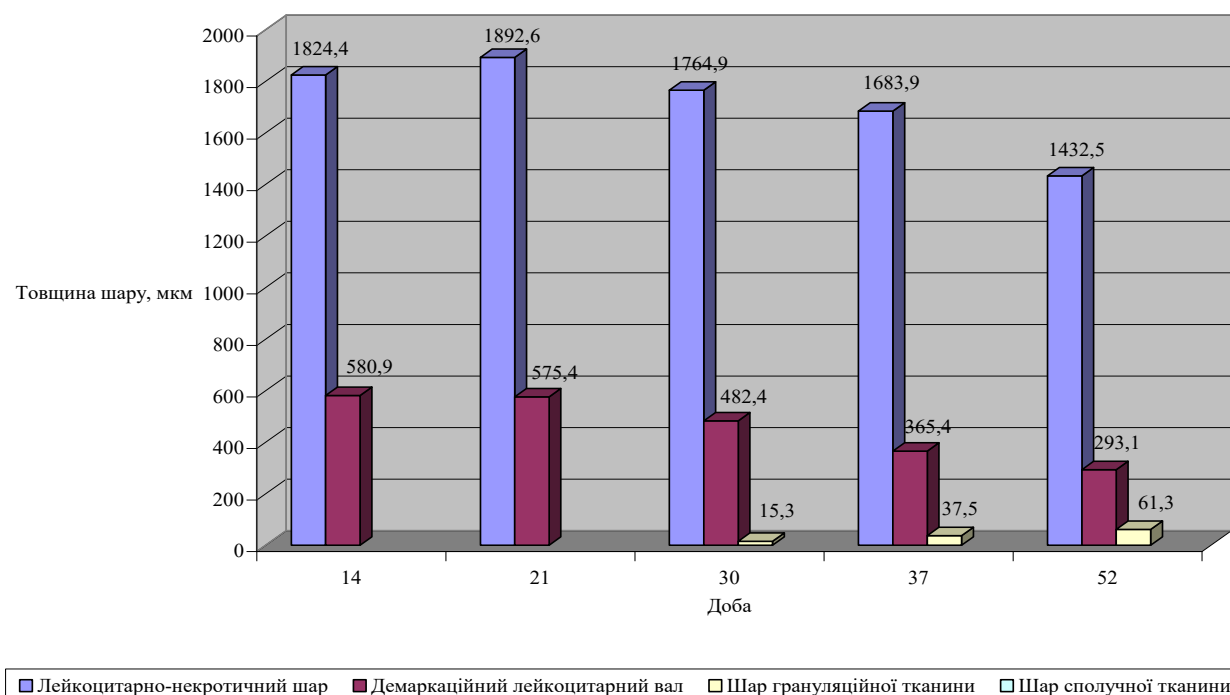


Рис. 4.8 Товщина шарів у рані

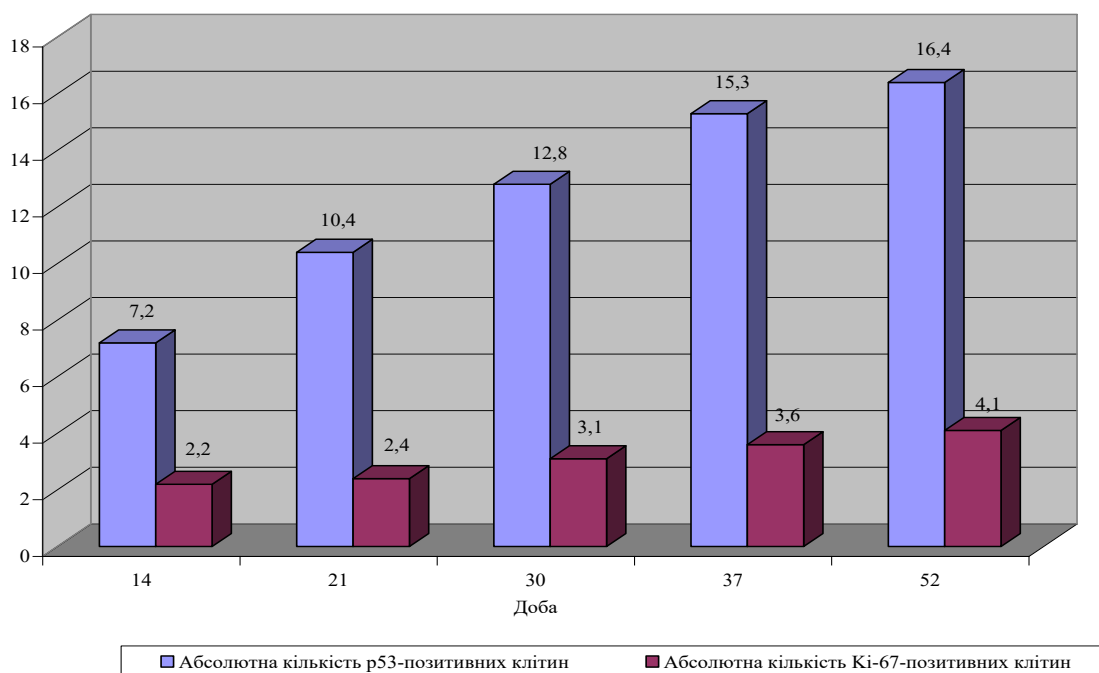


Рис. 4.9 Апоптотична та проліферативна активність в епідермісі

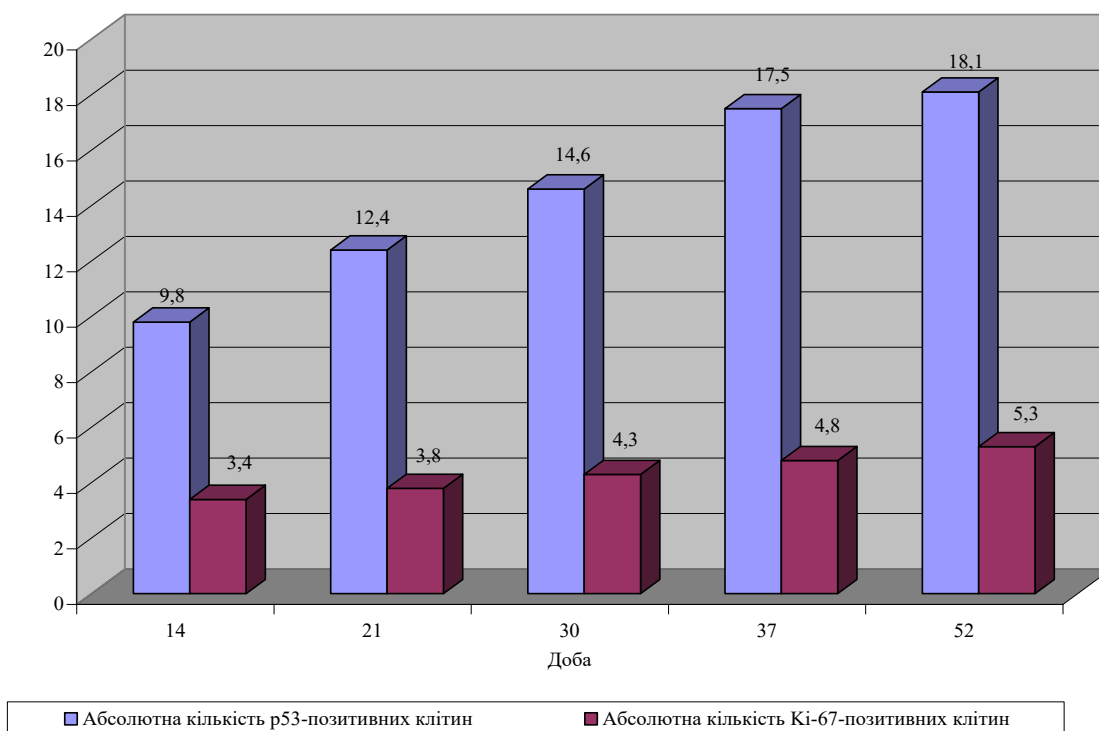


Рис. 4.10 Апоптотична та проліферативна активність в дермі, гіподермі та м'язовій тканині

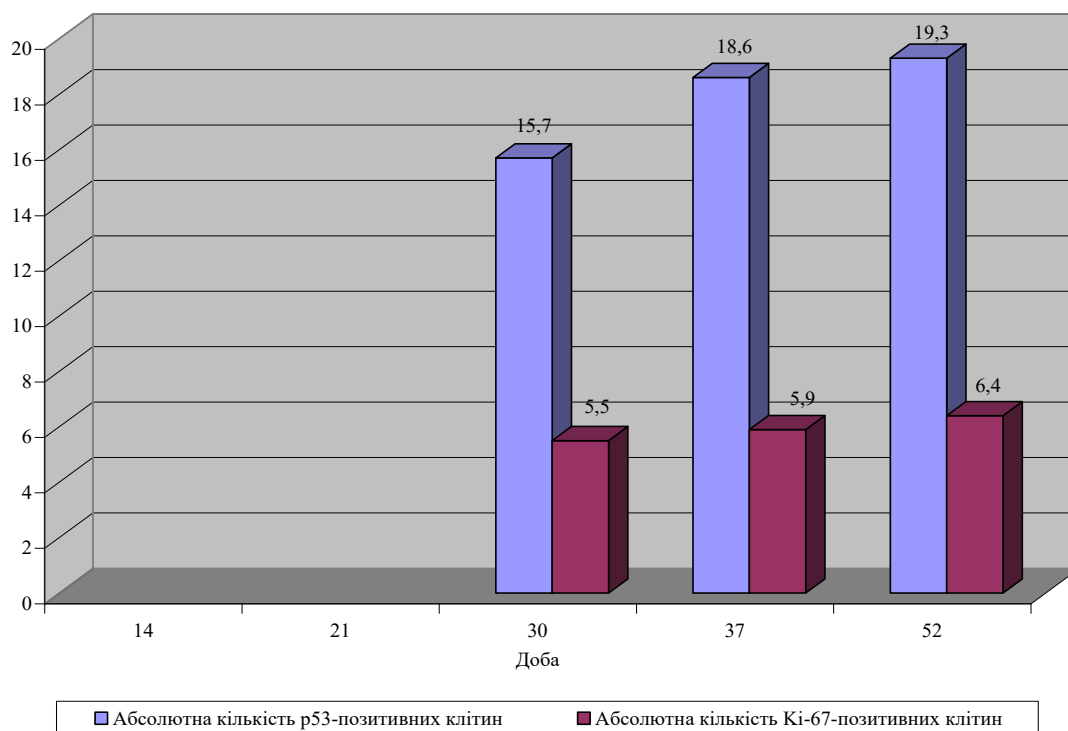


Рис. 4.11 Апоптотична та проліферативна активність в грануляційній та сполучній тканинах

У ході проведеного аналізу отриманих даних у даній групі, порівняно з попередньою (неінфікованою) групою, було виявлене наступне:

1. Товщина лейкоцитарно-некротичного шару на 14-ту та 21-шу добу була меншою ($p < 0,05$), на 30-ту добу не відрізнялася ($p > 0,05$), на 37-му та 52-гу добу була більшою ($p < 0,05$);

2. Товщина зони демаркації була більшою ($p < 0,05$) в усі терміни експерименту;

3. Більш мляві процеси появи та дозрівання грануляційної тканини, яка, як відомо, перетворюється на сполучну тканину, про що свідчить більш пізня її поява (в інфікованій групі на 30-ту, в неінфікованій – на 21-шу добу); менша ($p < 0,05$) товщина шару грануляційної тканини; відсутність шару сполучної тканини (в неінфікованій групі він з'являється на 37-му добу);

4. Більш виражені загальнопатологічні процеси в оточуючих променеву виразку епідермісі, дермі, гіподермі та м'язовій тканині;

5. Відсутність гіперпластичних процесів в епідермісі, що оточує ранову порожнину (в неінфікованій групі на 37-му добу дані процеси були виявлені, що призводило до його потовщення, а на 52-гу добу потовщений епідерміс утворював поверхневі акантотичні вrostання в підлеглу дерму);

6. Більш виражені апоптотичні процеси на тлі менш виражених процесів проліферації клітинних елементів епідермісу, дерми, гіподерми, м'язової тканини, що оточують променево виразку а також грануляційної тканини, розташованої в рановій порожнині.

Проведений порівняльний аналіз дозволив дійти висновку, що наявність інфекційного агенту (*Staphylococcus aureus*) в променевій виразці шкіри з підлеглими м'якими тканинами істотно гальмує процеси її загоєння. Таким чином, пошук ефективних лікувальних заходів та їх проведення мають бути спрямованими на відновлення нормального мікробіоценозу шкіри, що буде сприяти активізації процесів загоєння променевих виразок шкіри.

Мікроскопічна та імуногістохімічна характеристика інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами при проведенні фотодинамічної терапії показала наступні особливості її загоєння в умовах дії ФТД.

Загоєння рани послідовно проходить три характерні фази (фазу запалення, фазу регенерації та фазу реорганізації рубця). Дана виразка на 14-ту, 21-шу та 30-ту добу експерименту характеризувалася трьома шарами – лейкоцитарно-некротичним шаром, демаркаційним лейкоцитарним валом та шаром грануляційної тканини (рис. 4.12).

На 37-му добу ранова порожнина була заповнена грануляційною та сполучною тканиною, а на 52-гу добу – лише сполучною тканиною, що свідчило про повне загоєння рани. На 37-му добу поверхня регенерату була вкрита стоншеним або потовщеним епідермісом, а місцями епідерміс не визначався. На 52-гу добу поверхня регенерату була вкрита стоншеним епідермісом, в якому були відсутні характерні шари.

Таким чином, результатом загоєння інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами, яка була піддана дії ФДТ, буде формування патологічного шкірного рубця (гіпертрофічного рубця або келоїдного ряду). Цей висновок зроблено на підставі наступного:

- на 37-му добу при оглядовій мікроскопії були виявлені морфологічні особливості волокнистого компонента грануляційної тканини, розташованої в порожнині рани, які в літературі описані як характерні для патологічних шкірних рубців ознаки [136]. Так, у волокнистому компоненті грануляційної тканини була відзначена наявність потовщених фуксинофільних сполучнотканинних волокон, серед яких визначалися лише колагенові волокна. Виявлені сполучнотканинні волокна розташовувалися хаотично;

- на 37-му добу було виявлено, що на поверхні сформованого регенерату, епідерміс в частині полів зору був відсутній.

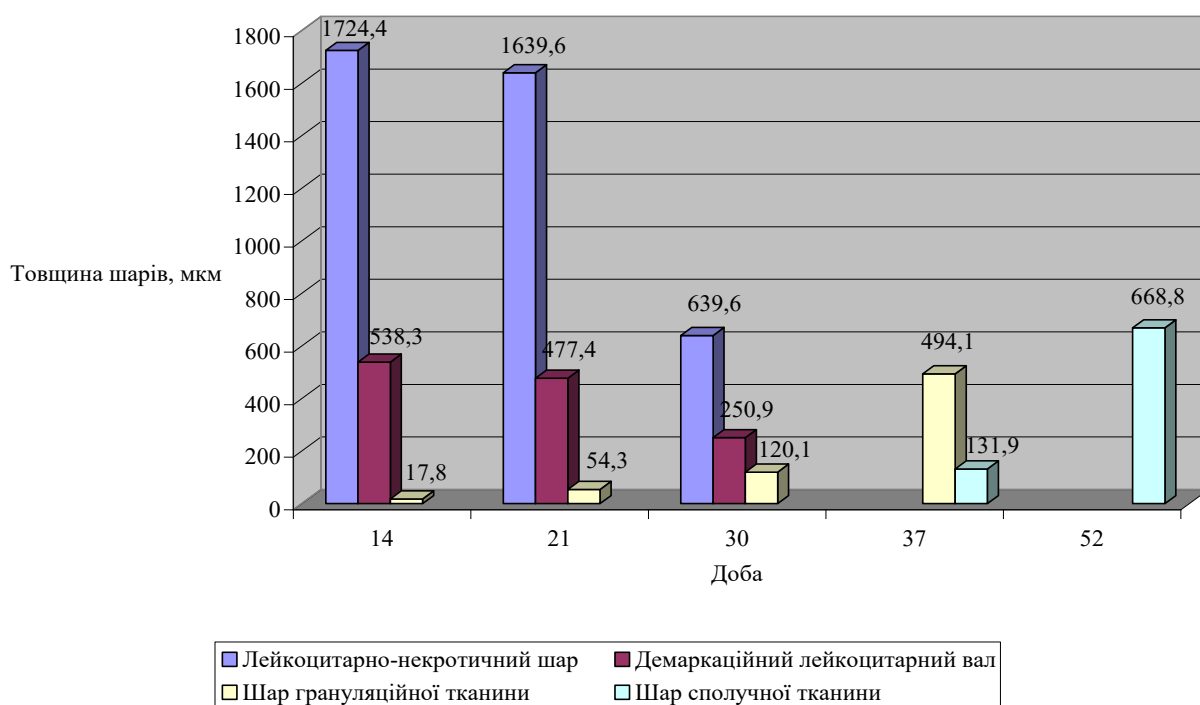


Рис. 4.12 Товщина шарів у рані

Відомо, що в третю фазу загоєння рани відбувається рубцювання та епітелізація рани, причому ступінь вираженості даних процесів залежить один від одного. В фізіологічних умовах відзначено, що одночасно із дозріванням

грануляційної тканини відбувається епітелізація її поверхні. Доведено, що якщо епітелізація затримується в часі, а гранулювання та дозрівання рубцевої тканини прискорюється, то формується патологічний рубець [137];

- на 52-гу добу в сполучній тканині, що заповнює ранову порожнину, волокна розташовувалися не паралельно поверхні шкіри, а хаотично, тобто мали різне спрямування; місцями серед сполучнотканинних волокон були виявлені лише грубоволокнисті колагенові волокна. Місцями сформована сполучна тканина розташовувалася вище рівня оточуючої шкіри і була вкрита стоншеним епідермісом, в якому відсутні характерні шари (рис. 4.13). Дані особливості в літературі також описані як характерні для патологічних шкірних рубців ознаки [138].

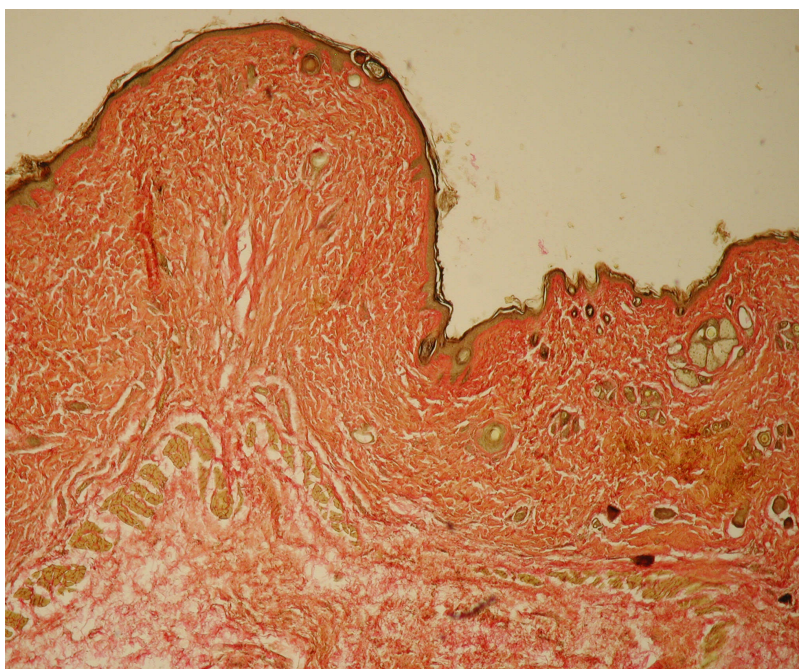


Рис. 4.13 Сформована сполучна тканина розташовується вище рівня оточуючої шкіри та вкрита стоншеним епідермісом, в якому відсутні характерні шари. Зabarвлення пікрофуксином за Ван-Гізоном, Ч40

Проведений порівняльний аналіз даних цієї групи з попередньою групою показав, що ФДТ активізує та прискорює процеси загоєння інфікованих *Staphylococcus aureus* променевих виразок шкіри з підлеглими м'якими тканинами. Даний висновок підтверджують наступні факти:

1. У групі променева виразка + інфікування + ФДТ, порівняно з групою променева виразка + інфікування товщина лейкоцитарно-некротичного шару на 14-ту, 21-шу та 30-у добу менша ($p < 0,05$). У групі променева виразка + інфікування + ФДТ на 37-му та 52-гу добу лейкоцитарно-некротичного шару немає, на той час як у групі променева виразка + інфікування він був присутній. Виявлені зміни свідчать, що дія ФДТ виробляє до активації процесів очищення ранової порожнини від некротизованих тканин.
2. Демаркаційний лейкоцитарний вал у групі променева виразка + інфікування + ФДТ, порівняно з групою променева виразка + інфікування був значно меншим ($p < 0,05$) за товщиною на 14-ту, 21-шу та 30-ту добу. На 37-му та 52-гу добу в групі променева виразка + інфікування + ФДТ відзначалася його відсутність, тоді як у групі променева виразка + інфікування він був присутній. Вищевказані факти доводять, що завдяки ФДТ пригнічується ріст патогенної мікрофлори в рановій порожнині, тобто спостерігається антибактеріальний ефект і, як результат, спостерігається зменшення запальних змін у вогнищі пошкодження.
3. Дослідження появи грануляційної тканини дозволило встановити, що в групі променева виразка + інфікування + ФДТ елементи грануляційної тканини з'являються раніше, вона інтенсивно дозріває та перетворюється на сполучну тканину. Так, в групі променева виразка + інфікування + ФДТ, грануляційна тканина з'являється на 14-ту добу (в групі променева виразка + інфікування на 30-у добу), перетворюється на сполучну тканину на 37-му добу (в групі променева виразка + інфікування сполучна тканина не була виявлена в усі терміни експерименту). Це вказує, що ФДТ стимулює процеси появи, росту та дозрівання грануляційної тканини та перетворення її на сполучну тканину.
4. В групі променева виразка + інфікування + ФДТ, порівняно з групою променева виразка + інфікування, загальнопатологічні процеси в оточуючих ранову порожнину епідермісі, дермі, гіподермі та м'язовій тканині менш виражені, тобто ФДТ зменшує ступінь вираженості гемодинамічних порушень; ішемічних, дистрофічних та некротичних змін; запальних змін; стимулює гіперпластичні процеси в епідермісі.

5. В групі променева виразка + інфікування + ФДТ (рис. 4.14–4.16) зареєстровано переважання активності проліферативних процесів над процесами апоптозу, тоді як у групі променева виразка + інфікування, навпаки, апоптотичні процеси переважали над процесами проліферації. Отже ФДТ збалансовано стимулює проліферативний та апоптотичний потенціал: в крайових відділах рани – епітеліоцитів епідермісу, клітин придатків шкіри; в дермі, гіподермі, м'язовій тканині – ендотеліоцитів судин, клітин фібробластичного ряду, імунних клітин; в м'язовій тканині – міоцитів; в грануляційній та сполучній тканинах – клітин фібробластичного ряду, ендотеліоцитів судин, імунних клітин.

Таким чином, ФДТ активізує та прискорює процеси загоєння інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами, що згоджується з даними літератури [139-141].

Однак виявлені нами ознаки формування патологічного рубця (гіпертрофічного рубця або келоїдного ряду) в результаті загоєння інфікованих променевих виразок актуалізує проблему якості їх загоєння, що потребує проведення подальших досліджень з метою пошуку методів лікування, які привели б до органотипової регенерації з повним відновленням вихідної будови шкіри.

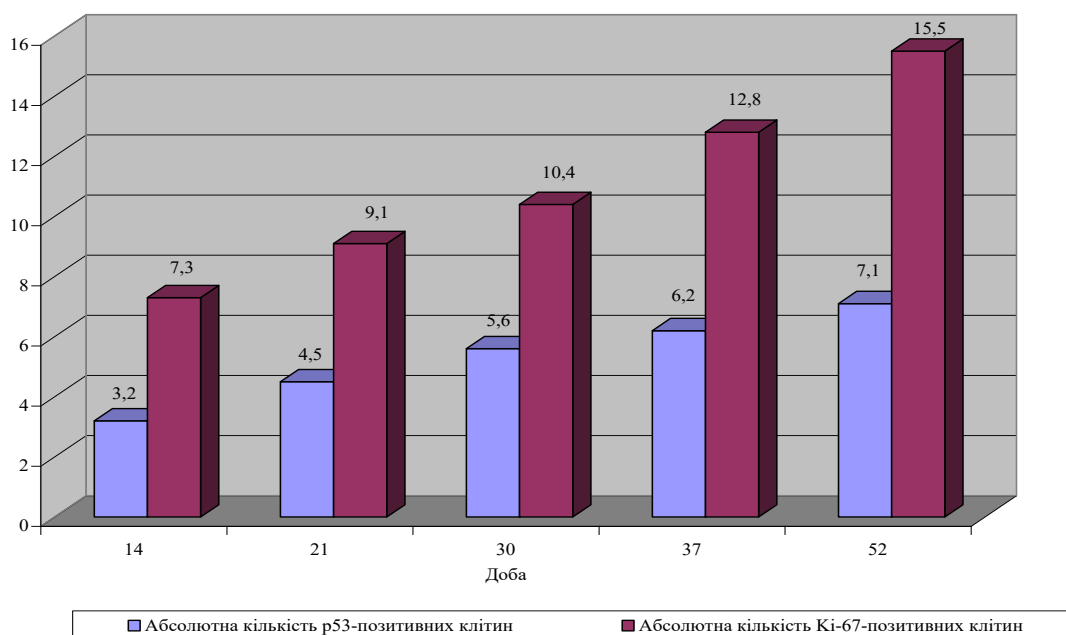


Рис. 4.14 Апоптотична та проліферативна активність в епідермісі

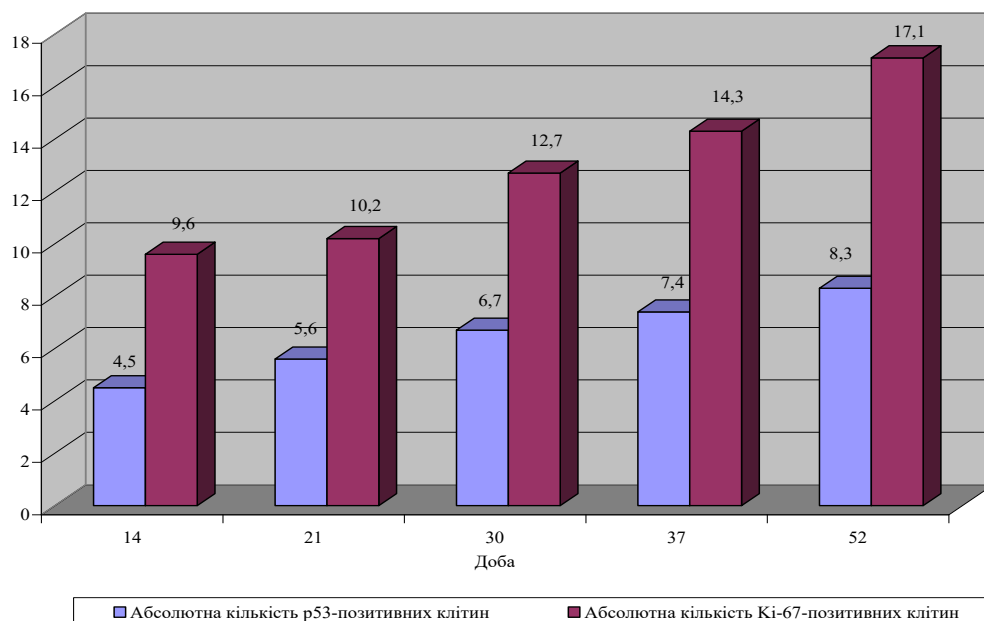


Рис. 4.15 Апоптотична та проліферативна активність в дермі

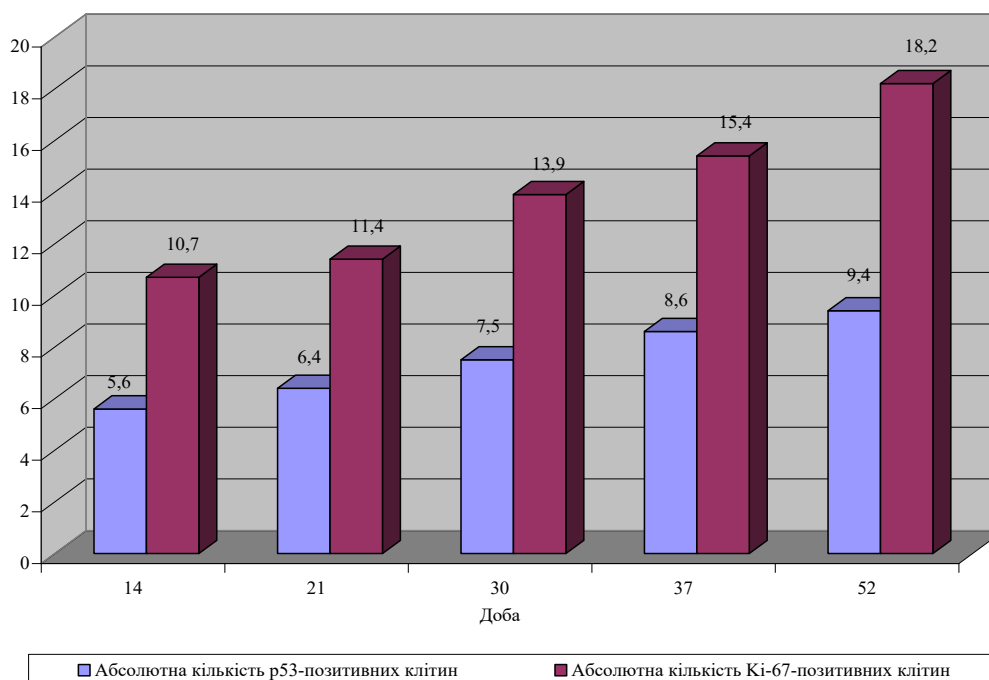


Рис 4.16 Апоптотична та проліферативна активність в грануляційній та сполучній тканинах

Наступне проведення мікроскопічного та імуногістохімічного дослідження інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри при проведенні фотометаболічної терапії дозволило дати морфологічну оцінку загоєння інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри з

підлеглими м'якими тканинами в умовах комбінованої місцевої терапії – ФДТ в комбінації з обколюванням рани багатою на тромбоцити плазмою крові (ФДТ + PRP). Отримані дані свідчать про виражений (порівняно з лише ФДТ) ранозагоювальний ефект проведеної комбінованої місцевої терапії (ФДТ + PRP) інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами, що призвело до її органотипового загоєння. Органотипова регенерація, як відомо, є одним з видів регенерації, коли дефект органу заміщується регенератом, який відповідає будові органу [142].

В групі променева виразка + інфікування + ФДТ + PRP, порівняно з групою променева виразка + інфікування + ФДТ:

- по-перше, відбувалося більш інтенсивне очищення рани від некротизованих тканин, про що свідчила зміна товщини лейкоцитарно-некротичного шару (рис. 4.17);
- по-друге, менш виражені запальні зміни в оточуючих ранову порожнину дермі, гіподермі, м'язовому шарі та менша зона демаркації, яка до того ж швидше зникла з порожнини рани (рис. 4.18–4.20);
- по-третє, відбувалися більш активні процеси дозрівання грануляційної тканини і перетворення її на сполучну тканину. Крім того, грануляційна тканина характеризувалася більш інтенсивними процесами формування судин (тобто більш активним ангиогенезом). Судини, як відомо, забезпечують трофіку тканини. Відомо, що загоєння швидше відбувається в краще васкуляризованих тканинах [143];
- по-четверте, були виявлені більш активні проліферативні процеси в епідермісі, який розташовувався в крайових відділах рани, що призводило до більш швидкої епітелізації поверхні регенерату (рис. 4.21). Також було відзначено, що акантотичні вrostання в підлеглу тканину були більш вираженими (рис. 4.22). Відомо, що акантотичні вrostання є в майбутньому джерелом утворення зачатків волосся та залоз;
- по-п'яте, активізація апоптотичних та проліферативних процесів більш збалансована. Цікаво, що в групі променева виразка + інфікування + ФДТ + PRP, з 10-ої до 22-ої доби експерименту дані процеси наростають, а з 25-ої до 45-ої доби ступінь їх виразності зменшується. Даний факт, на нашу думку, зумовлений

процесами регенерації, які найбільш активні з 10-ої до 22-ої доби, а з 25-ої до 45-ої доби темпи регенераторних процесів знижуються, оскільки дефект вже з 25-ої доби цілком заповнений регенератом.

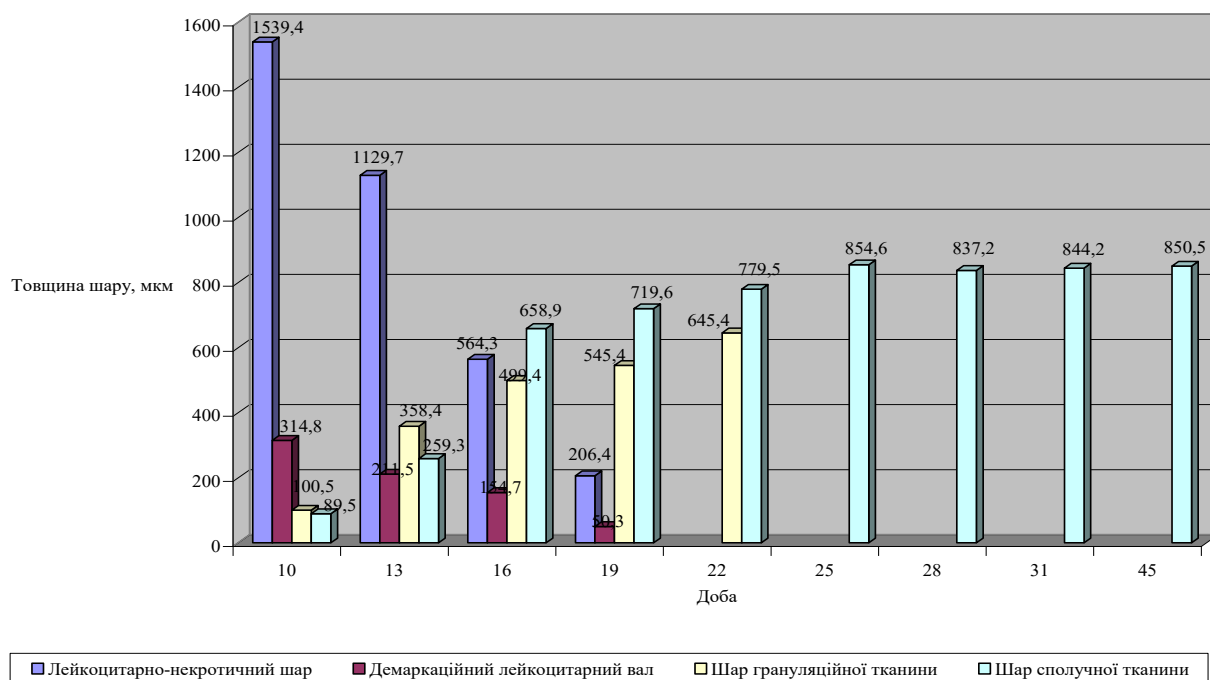


Рис. 4.17 Товщина шарів у рані

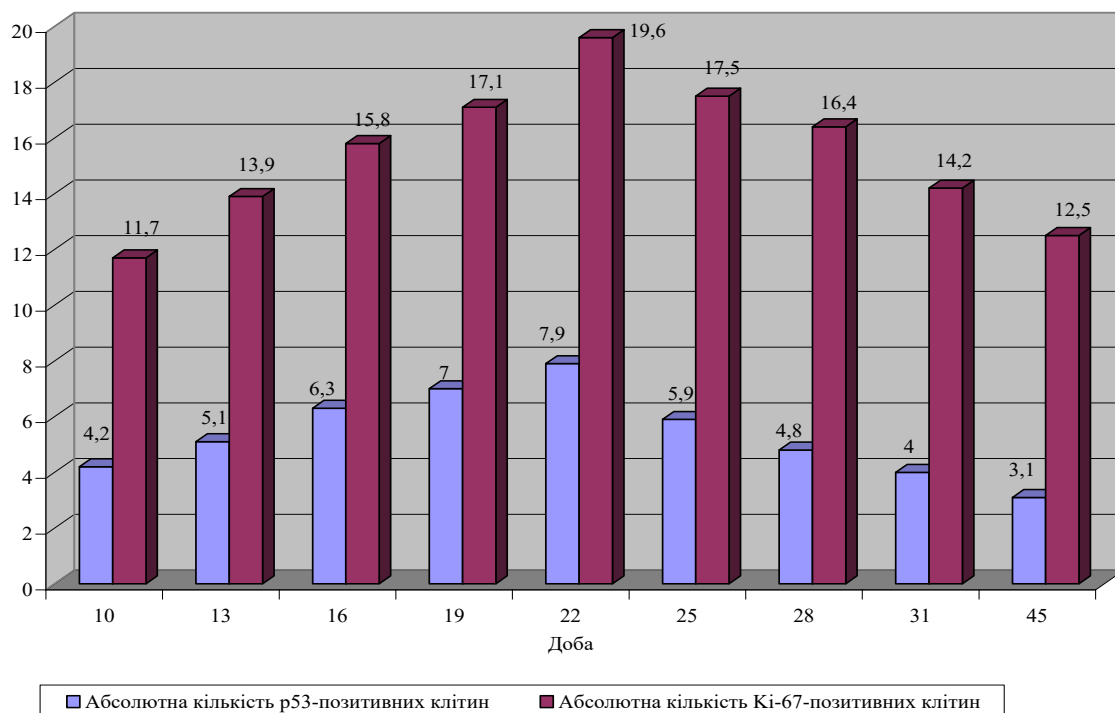


Рис. 4.18 Апоптотична та проліферативна активність в епідермісі

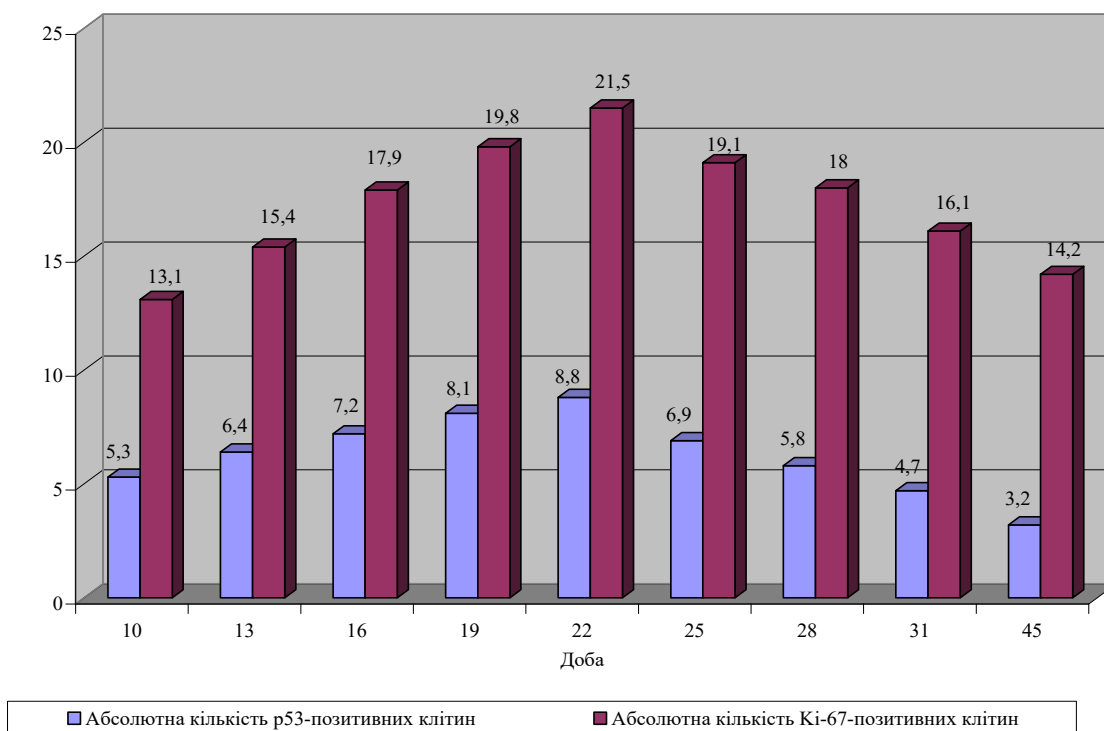


Рис. 4.19 Апоптотична та проліферативна активність в дермі

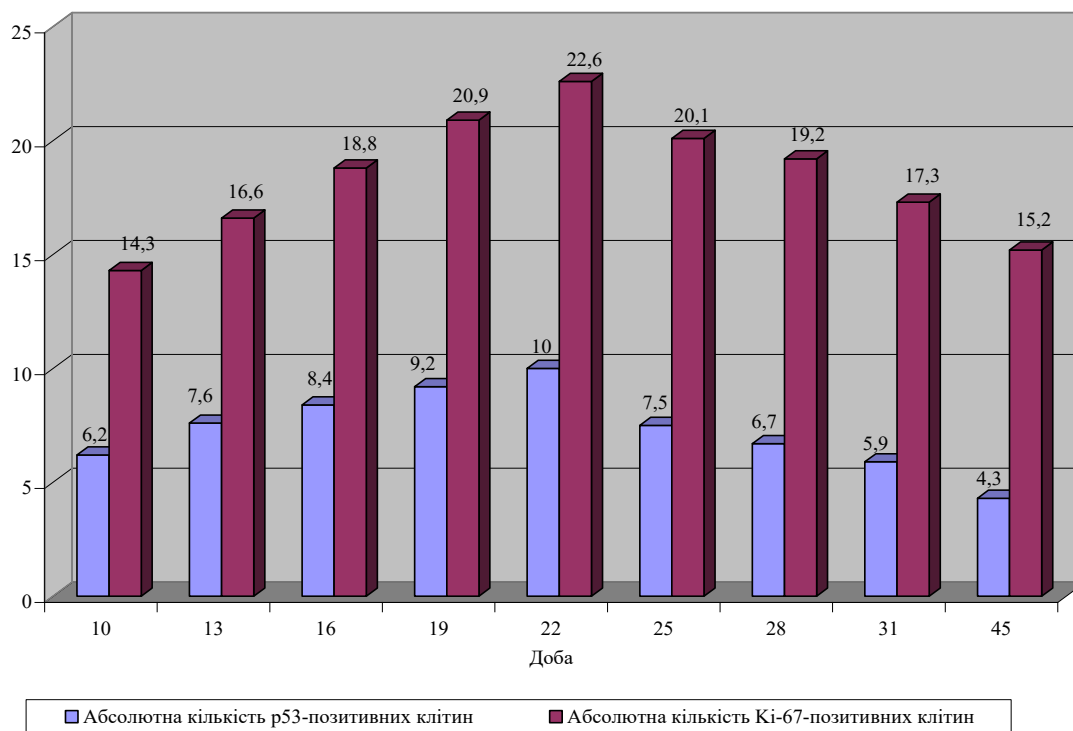


Рис. 4.20 Апоптотична та проліферативна активність в грануляційній та сполучній тканинах

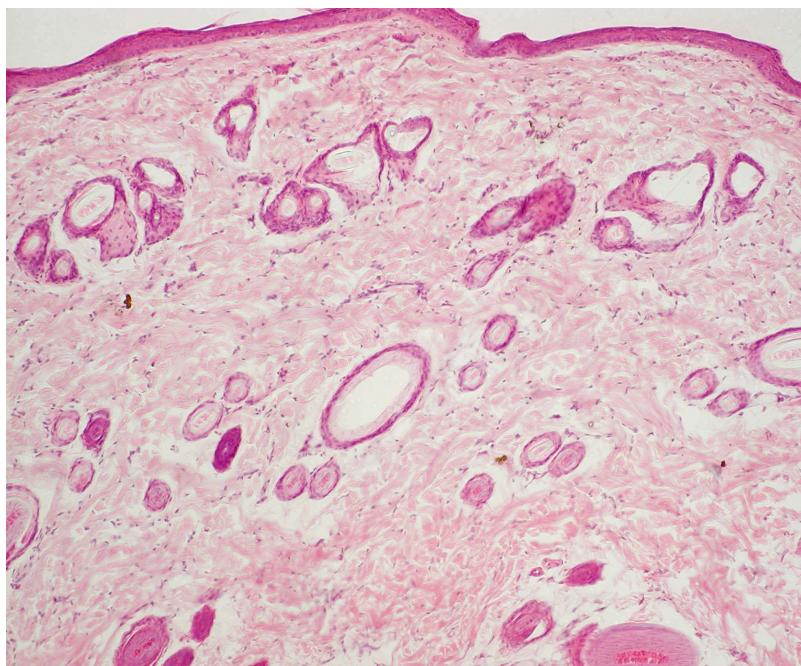


Рис. 4.21 Регенерат, який характеризується наявністю придатків шкіри
Поверх регенерату вкрита епідермісом, що має пошарову організацію
Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$

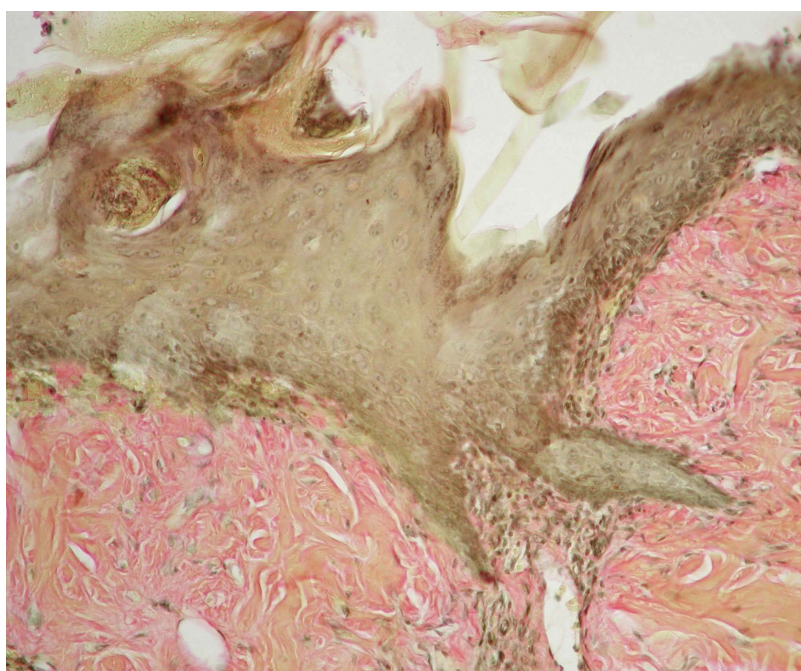


Рис. 4.22. Епітеліальний пласт, розташований в крайових відділах рани,
потовщений та утворює акантотичні вrostання в дерму. Забарвлення
пікрофуксином за Ван-Гізоном, $\times 200$

Отримані нами позитивні ефекти проведеного лікування зумовлені не тільки ФДТ, а й використанням багатої на тромбоцити плазми, яка, як відомо, характеризується наявністю великої кількості біологічно активних речовин.

4.2 Системні ефекти фотодинамічна терапії при лікуванні променевої виразки шкіри у щурів

4.2.1 Стан периферичної крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані рани

Для адекватної оцінки впливу ФДТ на стан щурів з локальним опроміненням у дозі 85,0 Гр та штучним інфікуванням МПУ штамми мікроорганізмів *S. aureus*, ми визначали вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів та лейкоцитів у крові.

За норму були прийняті показники периферичної крові, які були характерні для даної групи тварин (група біологічного контролю):

гемоглобін: $148,14 \pm 1,83$ г/л;

еритроцити: $6,74 \pm 0,21 \cdot 10^{12}$ /л;

лейкоцити: $8,35 \pm 0,19 \cdot 10^9$ /л.

Показники периферичної крові в усіх групах піддослідних тварин наведені в табл. 4.3.

Після локального опромінення, у перші 14 діб у щурів розвивалася досить глибока лейкопенія із зниженням рівня лейкоцитів на 40–50 % від норми. Наприкінці експерименту (30-та–45-та доба) кількість лейкоцитів дещо збільшувалася, але до норми не відновлювалася. Паралельно з 7-ої доби спостережень і до кінця експерименту у тварин спостерігалася помірна анемія з вірогідним зниженням кількості еритроцитів та рівня гемоглобіну – на 15–20 % від норми ($p < 0,05$).

Інфікування променевої виразки штамми *S. aureus* на виразність анемії практично не впливало. Однак, динаміка лейкоцитів в інфікованих групах

змінювалася суттєво. У перші два тижні спостережень у інфікованих щурів лейкопенія практично не було, на відміну від неінфікованих променевих виразок, але з 21-ї доби вона все ж таки розвивалася (кількість лейкоцитів була на 25 – 35 % нижче норми, ($p < 0,05$), і така картина зберігалася до кінця експерименту.

Застосування ФДТ значно вплинуло на стан показників периферичної крові у тварин з інфікованими променевими виразками. У ранні строки спостережень було відзначено тільки тенденцію до анемії, а з 21-ої доби і до кінця експерименту показники червоної крові відповідали нормальним.

Динаміка кількості лейкоцитів у групах, лікованих ФДТ, також змінювалася і більш відповідала картині у тільки опромінених тварин. Так, після ФДТ у цих тварин розвивалася помірна лейкопенія, однак наприкінці експерименту (30-та–45-та доба) рівень лейкоцитів відновлювався до норми.

Аналіз усіх отриманих даних показує, що локальне опромінення у дозі 85,0 Гр викликає у піддослідних тварин характерні постпроменеві зміни у крові у вигляді анемії та лейкопенії, що свідчить про пригнічення кровотворення [144]. Інфікування променевої виразки шкіри мікробними штамами *S. aureus* викликає однотипну картину змін у периферичній крові. Найбільш суттєво інфікування впливало на «білу кров». Підвищення рівня лейкоцитів у інфікованих тварин у ранній період після інфікування можна трактувати як спробу організму активізувати імунну відповідь на інфекцію, однак подальший розвиток лейкопенії свідчить про неповноцінність цієї реакції внаслідок виснаження кістково-мозкового кровотворення.

Відсутність лейкопенії після інфікування променевої виразки *S. aureus* свідчить про розвиток «синдрому взаємного впливу», коли велика кількість екзогенно введених мікробів сприяла викиду лейкоцитів, як захисній відповіді кісткового мозку.

Таблиця 4.3

Вплив ФДТ на показники периферичної крові в експериментальних тварин з локальним опроміненням у дозі 85,0 Гр та інфікуванням ділянки променевого дефекту *S. aureus*

Досліджена група	Показник	Інтактний контроль (n = 6)	Термін після інфікування/після опромінення, доба				
			7–14	14–21	21–28	30–37	45–52
1	2	3	4	5	6	7	8
Локальне опромінення 85,0 Гр (n = 25)	Гемоглобін, г/л, %	148,14 ± 0,25	124,41 ± 1,34	113,80 ± 2,14 *	121,07 ± 1,62	123,64 ± 3,27	132,73 ± 2,65
	Еритроцити, x 10 ¹² /л, %	6,74 ± 0,21	5,34 ± 0,11*	5,61 ± 0,19	4,67 ± 0,23 *	5,45 ± 0,24 *	6,09 ± 0,17
	Лейкоцити, x 10 ⁹ /л, %	8,35 ± 0,19	4,84 ± 0,17*	5,12 ± 0,18 *	4,39 ± 0,21 *	6,32 ± 0,31 *	6,25 ± 0,19 *
Локальне опромінення 85,0 Гр + <i>S.aureus</i> (n = 25)	Гемоглобін, г/л, %	148,14 ± 0,27	125,71 ± 1,28	106,72 ± 2,15 *	113,11 ± 1,26 *	118,23 ± 2,35 *	121,00 ± 2,37 *
	Еритроцити, x 10 ¹² /л, %	6,74 ± 0,21	5,15 ± 0,13 *	4,88 ± 0,11 *	4,79 ± 0,15 *	4,88 ± 0,29 *	4,76 ± 0,16 *, **
	Лейкоцити, x 10 ⁹ /л, %	8,35 ± 0,19	7,03 ± 0,29**	7,80 ± 0,31**	5,41 ± 0,17 *	5,63 ± 0,41 *	6,17 ± 0,34*

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8
ЛО 85,0 Гр + S.aureus + ФДТ (n = 25)	Гемоглобін, г/л, %	148,14 ± 0,16	131,11 ± 3,28	123,31 ± 3,18	148,02 ± 2,19 †	142,71 ± 1,42 †	143,64 ± 1,98 †
	Еритроцити, x 10 ¹² /л, %	6,74 ± 0,21	6,04 ± 0,23	5,46 ± 0,33	6,28 ± 0,21 †	6,17 ± 0,28 †	6,39 ± 0,22 †
	Лейкоцити, x 10 ⁹ /л, %	8,35 ± 0,19	5,51 ± 0,13 *	6,22 ± 0,18 *	6,29 ± 0,16 *	7,95 ± 0,32 †	8,07 ± 0,15 †

Примітки:

- 1.* – відмінності вірогідні між показниками інтактної та дослідних груп ($P < 0,05$).
- 2.** – відмінності вірогідні між показниками групи з локальним опроміненням і групи з локальним опроміненням та інфікуванням.
- 3.† – відмінності вірогідні між показниками групи з локальним опроміненням та інфікуванням та аналогічної групи з ФДТ.

ФДТ знищує інфекційний компонент ураження, що дає, певною мірою можливість відновлення кровотворення і тому позитивно впливає на стан периферичної крові. Крім цього, ФДТ здійснювалася на ділянці стегна щура, де під вплив червоного світла міг потрапляти саме відділ епіфізу стегнової кістки, де здійснюється кістковомозкове кровотворення.

В цілому, усі ці патогенетично обумовлені механізми призводять до відновлення показників периферичної крові після застосування ФДТ.

4.2.2 Стан про- та антиоксидантного гомеостазу при місцевому впливі ФДТ на інфіковані *Staphylococcus aureus* променеві виразки шкіри у щурів

Процес біологічного окиснення і відновлення є найважливішою складовою частиною різних ланок метаболічних реакцій, що відбуваються в організмі, і в його адаптаційних реакціях.

Під впливом різних екзогенних або ендогенних екстремальних факторів (іонізуюча радіація, ультрафіолетове опромінення, ендогенна інтоксикація) виникають радикали-ініціатори реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і настає гостра або довготривала стресорна активація або гіперактивація ПОЛ з підвищенням утворенням (окисних) кисневих радикалів, пероксидів, альдегідів [145].

Найбільш агресивною з активних форм кисню є супероксидний аніон-радикал O_2^- , який як порушує функцію клітин (пошкодження фосфоліпідного шару клітинної мембрани), так і викликає безпосередню загибель клітин (цитотоксичний ефект).

Головними показниками інтенсивності та динаміки ПОЛ в живих організмах є продукти ПОЛ [малоновий діальдегід (МДА) та дієнові кон'югати (ДК) – так звані маркери ПОЛ]. Протидію оксидативному стресу і знищення окремих активних форм кисню здійснюють внутрішньоклітинні антиоксидантні (АО) ферменти, а саме супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза.

Обидва ферменти каналізують послідовні етапи процесу перекисного окиснення ліпідів [146].

СОД на початковій стадії антиокиснювального процесу дисмутує супероксидний аніон-радикал O_2^- з утворенням H_2O_2 . На завершальному етапі знищення продуктів ПОЛ АО-фермент – каталаза – каталізує окиснення H_2O_2 .

Дослідження проведені на 81 щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 180–200 г.

Динаміка стану показників ПОЛ в сироватці крові піддослідних тварин наведена в таблицях 4.7 та 4.8.

Таблиця 4.7

Вміст ДК в сироватці крові щурів з променевими виразками, інфікованими *St. aureus*, до та після дії ФДТ, мкмоль/л

№	Група щурів	Термін спостереження після інфікування, доба				
		7	14	21	30	45
1.	Інтактна група n = 6	1,71 ± 0,07				
2.	МПУ n = 25	3,50 ± 0,12*	2,53 ± 0,09*	2,42 ± 0,11*	4,04 ± 0,11*	4,16 ± 0,20*
3.	МПУ + <i>S. aureus</i> n = 25	2,10 ± 0,10* **	2,30 ± 0,09*	2,40 ± 0,22*	4,03 ± 0,06*	3,95 ± 0,15*
4.	МПУ + <i>S. aureus</i> + ФДТ n = 25	1,82 ± 0,06** †	1,67 ± 0,09** †	1,73 ± 0,12** †	1,86 ± 0,07** †	1,56 ± 0,05** †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактною та дослідною груп ($p < 0,001$);

** – вірогідність відмінностей між показниками груп МПУ та інфікованих груп ($p < 0,05$);

† – вірогідність відмінностей між показниками інфікованих груп без лікування та аналогічних груп з ФДТ ($p < 0,05$).

Результати, які демонструють вміст ДК (табл. 4.7), дозволяють відзначити, що локальне променеве ураження (85,0 Гр) шкіри стегна щура зумовлює суттєве зростання рівня цього маркера ПОЛ. Концентрація ДК значимо зростала в початкові терміни після локальної дії іонізуючої радіації (в

1,5 рази, $P < 0,05$). Високий рівень ДК зберігався протягом усього періоду розвитку променевої виразки, перевищуючи показники нормальних значень у віддалений період у 2,3–2,4 рази ($P < 0,05$).

При співставленні даних у щурів з інфікованими *S. aureus* променевими виразками динаміка змін концентрації ДК виявлялася подібною. Вміст ДК у щурів з інфікованими променевими виразками поступово наростав і до кінця експерименту на тлі млявого перебігу загоєння променевої виразки (30-та–45-та доба) перевищував нормальні показники у 2,3–2,4 рази ($P < 0,05$), як і в групі лише опромінених тварин.

Після дії ФДТ (через добу після інфікування променевої виразки) рівень ДК вірогідно знижувався, порівняно з відповідними показниками інфікованого контролю, та знаходився на рівні нормальних значень.

Результати досліджень динаміки змін рівня МДА в сироватці крові наведені в табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Вміст МДА в сироватці крові щурів з променевими виразками, інфікованими *St. aureus*, до та після дії ФДТ, кмоль/л

№	Група щурів	Термін спостереження після інфікування, доба				
		7	14	21	30	45
1.	Інтактна група n = 6	4,55 ± 0,11				
2.	МПУ n = 25	8,0 ± 0,08*	8,62 ± 0,15*	5,99 ± 0,074*	6,4 ± 0,06*	6,8 ± 0,18*
3.	МПУ + <i>S. aureus</i> n = 25	7,74 ± 0,07* **	8,45 ± 0,08*	9,71 ± 0,11* **	7,72 ± 0,30* **	8,01 ± 0,09* **
4.	МПУ + <i>S. aureus</i> + ФДТ n = 25	4,35 ± 0,13** †	4,47 ± 0,17** †	4,39 ± 0,10** †	4,32 ± 0,1** †	4,51 ± 0,09** †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактної та дослідної груп ($p < 0,001$);

** – вірогідність відмінностей між показниками груп МПУ та інфікованих груп ($p < 0,05$);

† – вірогідність відмінностей між показниками інфікованих груп без лікування та аналогічних груп з ФДТ ($p < 0,05$).

Встановлено, що після локального опромінення в ділянці зовнішньої поверхні стегна щурів (доза 85,0 Гр) в ранніх термінах після впливу радіації (7-ма–14-та доба) спостерігалось вірогідне (в 1,7–1,8 рази від норми, $p < 0,05$) збільшення вмісту МДА. Рівень МДА в сироватці крові залишався підвищеним і в усі наступні терміни спостереження, аж до 45-ої доби, коли спостерігалось перевищення показника в півтора рази ($p < 0,05$) (табл. 4.8).

У другій контрольній групі тварин піддавали двом стресовим впливам (радіаційної та інфекційної природи) у вигляді локального опромінення в дозі 85,0 Гр з подальшим інфікуванням променевої виразки *Staphylococcus aureus*. Вміст МДА в сироватці крові піддослідних тварин даної групи в перші строки (7-ма – 14-та доба) після інфікування був порівняним з неінфікованим контролем (перевищення норми на 75 – 80 %, $p < 0,05$). Але в міру спонтанного загоєння інфікованих променевих виразок на тлі збільшення гнійно-некротичних зон, з початку 21-ої доби вміст МДА в сироватці крові різко підвищувався (в 2,0 – 1,7 рази, $p < 0,05$).

Найбільші показники вмісту МДА відзначені в період наявності в променевій виразці некротичних, гнійно-некротичних і запальних процесів. Так на 21-шу, 30-ту і 45-ту добу досліджень показник перевищував не тільки нормальний рівень в 1,7 – 2,2 рази, але був вірогідно вище, ніж у групі лише опромінених тварин.

Таким чином, у групах тварин з інфікованими променевими ушкодженнями шкіри стегна, яких лікували за допомогою одного сеансу ФДТ, явищ пероксидації, характерної для контрольних груп (2, 3), не виявлено. Фотодинамічний і антимікробний ефект знижував фактори ініціації ПОЛ, що демонструється нормальними показниками МДА в межах 93–96 % від норми в інфікованій *Staphylococcus aureus* групі (табл. 4.8).

Зміни рівня активності СОД наведено в таблиці 4.9.

Вихідна активність СОД у сироватці крові інтактних щурів становила 4,80 у.о. (табл. 4.9).

Активність СОД у сироватці крові щурів після інфікування МПУ шкіри *St. aureus* та дії ФДТ, ум. од.

№	Група щурів	Термін спостереження після інфікування, доба				
		7	14	21	30	45
1.	Інтактна група n = 6	4,80 ± 0,12				
2.	МПУ n = 25	4,83 ± 0,10*	3,56 ± 0,13*	2,53 ± 0,17*	4,07 ± 0,10*	4,29 ± 0,22*
3.	МПУ + <i>S. aureus</i> n = 25	4,82 ± 0,12* **	2,71 ± 0,15* **	2,24 ± 0,36* **	2,20 ± 0,10* **	3,25 ± 0,14* **
4.	МПУ + <i>S. aureus</i> + ФДТ n = 25	4,46 ± 0,52** †	4,82 ± 0,5** †	4,06 ± 0,10** †	5,38 ± 0,19** †	5,58 ± 0,36** †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактної та дослідної груп ($p < 0,001$);

** – вірогідність відмінностей між показниками груп МПУ та інфікованих груп ($p < 0,05$);

† – вірогідність відмінностей між показниками інфікованих груп без лікування та аналогічних груп з ФДТ ($p < 0,05$).

При локальному впливі іонізуючої радіації в дозі 85,0 Гр активність СОД на ранніх термінах спостереження (7-ма доба) не змінювалася (складала 100,6 % від норми). Під час наступних термінів дослідження (14-та – 21-ша доба) в період гнійно-некротичної і запальної фаз, активність СОД виснажувалася і характеризувалася зниженням в середньому на 25–50 % ($p < 0,05$). В більш віддалений період спостережень (30-та–45-та доба) паралельно зі спонтанним загоєнням променевої виразки спостерігалась тенденція до відновлення активності ферменту (84,8–89,4 % від норми, $p < 0,05$).

У контрольній групі інфікованих *Staphylococcus aureus* променевих виразок в ранні строки спостереження (7-ма доба) активність СОД, як і в групі неінфікованих виразок, зберігалася (100,4 % від норми). В стадії гнійно-некротичної і запальної фаз (14-та, 21-ша та 30-та доба) мікробна інфекція в променевих виразках провокувала подальше пригнічення активності ферменту майже в 2 рази ($p < 0,05$). Привертає увагу факт, що на 14-ту, 21-шу, 30-ту і 45-

ту добу різниця в показниках активності СОД між інфікованими і неінфікованими виразками була достовірною.

До кінця спостереження на тлі перших ознак загоєння променевої виразки (45-та доба) та розвитку відновних процесів в організмі, показники активності СОД відновлювалися, але продовжували залишатися зниженими на 33 % як по відношенню до норми, так і відносно неінфікованої виразки ($P < 0,05$).

Після проведення на інфіковану променево виразку сеансу ФДТ активність СОД не знижувалась, а зберігалась на рівні нормальних величин в усі терміни спостережень, значно перевищуючи відповідний показник у групі, що не підлягала лікуванню.

Відновлення супероксидазної активності в групі, що підлягала лікуванню спостерігалось на тлі загоєння променевої виразки, що супроводжувалось збільшенням біосинтезу білка після дії ФДТ. За даними робіт академіка Владимирова Ю.А. та ін., збільшення активності СОД (інколи в багато разів!) пов'язане з активацією біосинтезу ферменту в результаті дії інтенсивного світла в червоній ділянці спектра. В даній роботі ФДТ також здійснювалася за допомогою опромінення променевої виразки світлом в червоній ділянці спектра (довжина хвилі 630–650 нм), що зумовлювало підвищений синтез СОД. Тенденція до відновлення активності СОД в контрольних групах відбувалася в період спонтанного загоєння променевої виразки, тобто на тлі збільшення білкового синтезу.

Зміни активності каталази в досліджувані терміни у сироватці крові тварин дослідних і контрольних груп наведені в таблиці 4.10.

Таблиця 4.10

Активність каталази в сироватці крові щурів після інфікування МПУ

шкіри *St. aureus* та дії ФДТ, мкат/л

№	Група щурів	Термін спостереження після інфікування, доба				
		7	14	21	30	45
1.	Інтактна група n = 6	16,52 ± 0,42				
2.	МПУ n = 25	22,15 ± 0,74*	8,45 ± 0,82*	12,70 ± 0,46*	8,12 ± 1,17*	8,52 ± 0,86*
3.	МПУ + <i>S. aureus</i> n = 25	17,80 ± 1,20 **	10,87 ± 0,43*	10,40 ± 0,43*	10,12 ± 0,36*	8,64 ± 0,31*
4.	МПУ + <i>S. aureus</i> + ФДТ n = 25	21,24 ± 1,03** †	16,05 ± 0,78** †	20,40 ± 1,21** †	18,10 ± 0,45** †	15,00 ± 0,91** †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактною та дослідною груп (p < 0,001);

** – вірогідність відмінностей між показниками груп МПУ та інфікованих груп (p < 0,05);

† – вірогідність відмінностей між показниками інфікованих груп без лікування та аналогічних груп з ФДТ (p < 0,05).

У відповідь на дію іонізуючої радіації (85,0 Гр) на ділянку шкіри стегна щура відбувався короточасний значний підйом активності каталази – на 34 % (P < 0,05).

В наступні фази розвитку променевої виразки активність каталази знижувалась у 2 рази (P < 0,05), що свідчить про виснаження антиперекисного захисту антиоксидантної системи.

У разі інфікування променевого пошкодження шкіри (променевої виразки) *S. aureus* не спостерігалось суттєвого збільшення активності каталази, порівняно з групою тварин, яких піддали лише променевій дії (108 % проти 134,1 % відповідно, P > 0,05). В наступні фази розвитку променевої виразки активність каталази була стабільно зниженою на 40–50 % (P < 0,05), що статистично не відрізнялося від показників у групі неінфікованої променевої виразки.

Відмінності в показниках активності каталази між тільки опроміненими та інфікованими після опромінення щурами не були вірогідними, що нівелювало значення впливу інфекційного чинника на цей фермент.

Таким чином, встановлено, що ФДТ сприяє стабілізації процесів ПОЛ у вигляді нормалізації вмісту ДК і МДА і підвищенню антиоксидантного потенціалу крові, що виражалось у відновленні активності СОД і каталази. У міру прогресування патологічного процесу (МПУ шкіри, інфіковані рани) з часом відзначається наростання оксидативних реакцій і зростання напруженості у функціонуванні АО-захисту.

Найбільш виражені зміни активності ПОЛ і АО-системи відзначені в групах опромінених тварин з подальшим інфікуванням променевого ушкодження шкіри, що обумовлено збільшенням стресового навантаження і посиленням надходження в кров факторів, що ініціюють гіпероксидацію (продуктів променевого пошкодження, факторів мікробної інтоксикації).

Підвищення рівнів АО-факторів в крові є сприятливою ознакою, що свідчить про компенсаторні можливості організму, тоді як їх зниження відображає нездатність організму протистояти збільшенню активних форм кисню та їх похідних.

Відзначений стан АО-потенціалу периферичної крові свідчить про активацію антирадикального та антиперекисного захисту після ФДТ. Для зняття надлишкового напруження в організмі і посилення АО-захисту при променевому ураженні необхідне використання корегуючої терапії. Поряд з нутритивним поповненням вмісту антиоксидантів в організмі, фотодинамічну терапію можна розглядати як високоефективний альтернативний метод збереження та відновлення антиоксидантної системи вже на ранніх пострадіаційних етапах.

4.2.3 Вміст метаболітів оксиду азоту в сироватці крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані *Staphylococcus aureus* променеві виразки шкіри у щурів

Оксид азоту (ОА) є дуже активною хімічною сполукою, що виробляється різними клітинами організму, а саме — ендотеліоцитами,

лімфоцитами, нейтрофілами, моноцитами, макрофагами, епітеліоцитами та фібробластами, тучними клітинами та іншими клітинами багатьох органів та тканин [147].

У теперішній час ОА вважається одним з основних регуляторів у здійсненні різноманітних життєво важливих функцій організму в ролі універсального модулятора. Оксид азоту регулює серцево-судинний гомеостаз, імунний статус, запальний процес, чинить протипухлинну та протимікробну дію і підвищує активацію процесів загоєння ран [148, 149]

ОА виконує ще багато функцій в організмі, але вищеназвані мають першорядне значення в умовах репарації шкірних травм різного походження, особливо при їх інфікуванні.

Оскільки ОА є короткоіснуючою нестабільною сполукою, то для характеристики його рівня у тканинах встановлюють вміст стабільних метаболітів ОА, тобто нітратів та нітритів. У наших експериментах встановлювали сумарний вміст стабільних метаболітів ОА у сироватці крові щурів в динаміці розвитку інфікованого МПУ без лікування та при застосуванні ФДТ. Отримані дані наведені у таблиці 4.11.

У ранні терміни спостереження (на 7-му добу) у тварин з МПУ без штучного інфікування (група II) спостерігалось зниження рівня метаболітів ОА (вміст їх у сироватці крові становив 89,5% від норми). Однак з 14-ої доби і до кінця експерименту рівень цих речовин збільшувався в середньому на 30 %, порівняно з нормою, та досягав свого максимуму наприкінці спостереження – на 45-ту добу (175 % від норми, $P < 0,05$).

Таблиця 4.11

Вміст метаболітів ОА в сироватці крові щурів після лікування інфікованого *Staphylococcus aureus* МПУ шкіри (променевої виразки) до та після ФДТ, мкмоль/л

№	Група щурів	Термін спостереження після інфікування, доба				
		7	14	21	30	45
1.	Інтактна	44,8 ± 0,75				

	група n = 6					
2.	МПУ n = 25	40,1 ± 2,1*	61,9 ± 3,7*	61,8 ± 2,6*	57,5 ± 4,9*	78,4 ± 1,5*
3.	МПУ + <i>S. aureus</i> n = 25	35,5 ± 2,0*	80,4 ± 1,2* ** † 179,5 %	74,5 ± 1,0* ** †	71,8 ± 4,5** †	56,8 ± 5,2** †
4.	МПУ + <i>S. aureus</i> + ФДТ n = 25	62,6 ± 3,5* †	41,75 ± 1,7 †	45,7 ± 0,7 †	46,8 ± 3,1 †	42,7 ± 2,2 †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактної та дослідної груп ($p < 0,001$);

** – вірогідність відмінностей між показниками груп МПУ та інфікованих груп ($p < 0,05$);

† – вірогідність відмінностей між показниками інфікованих груп без лікування та аналогічних груп з ФДТ ($p < 0,05$).

Отже, розвиток МПУ шкіри супроводжувався фазними змінами рівня метаболітів ОА у сироватці крові. У перший післярадіаційний період на тлі розвитку некротичних та запальних процесів визначалася фаза дефіциту вмісту продуктів ОА (негативна фаза), а в наступні терміни спостережень мала місце фаза підвищеної концентрації продуктів ОА (позитивна фаза).

При штучному інфікуванні МПУ (променевої виразки) *S. aureus* фазність змін концентрації метаболітів ОА зберігалася, але їх рівень значно знижувався в негативній фазі та різко збільшувався у позитивній фазі. У цій групі тварин (група III) на 7-му добу показник знижувався (на 20,8 % від норми, $P < 0,05$). З 14-ої доби й до кінця експерименту у тварин з інфікованими променевими виразками рівень метаболітів ОА різко підвищувався як відносно нормальних значень (на 60 – 80 %, $P < 0,05$), так і відносно показників групи МПУ без інфікування (на 20 – 40 %, $P < 0,05$) у відповідні терміни.

У тварин з інфікованими *S. aureus* променевими виразками (група IV), де при лікуванні застосовувався метод ФДТ, на 7-му добу виявлялося збільшення вмісту метаболітів ОА в сироватці крові на 40 % ($p < 0,05$). У решту термінів спостереження (з 14-ої до 45-ої доби) відзначалася стабілізація показника, коли концентрація ОА складала 93–108 % відносно нормальних значень.

Враховуючи той факт, що синтез ОА відбувається у макрофагах, нейтрофілах, фібробластах, гладком'язових та епітеліальних клітинах, перерозподіл метаболітів ОА в сироватці крові в початкові терміни після дії іонізуючої радіації у вигляді значимого зниження їх рівня, вочевидь, пов'язаний з пострадіаційним руйнуванням та масовою загибеллю ОА-утворюючих клітин.

Дефіцит ОА на 7-му добу як в неінфікованих, так і в інфікованих променевих виразках, співпадав з уповільненням загоєння променевої виразки.

Динаміка загоєння інфікованих променевих виразок свідчить, що після ФДТ на тлі підвищеного рівня метаболітів ОА в сироватці крові значно прискорювався регенераторний процес аж до цілковитого загоєння променевих виразок, чого не відзначалося в контрольній групі. Механізми такого ефекту ФДТ були виявлені в комплексному морфологічному дослідженні за допомогою гістологічних та імуногістохімічних методів, результати якого свідчили про прискорення репаративних процесів у променевій виразці за рахунок стимуляції проліферації та диференціювання кератиноцитів і фібробластів та активації очищення ранової порожнини від некротизованих тканин, стимуляції колагеноутворення, що на завершальних етапах загоєння забезпечувало заповнення ранової порожнини сполучною тканиною зі шкірними придатками [8].

Різде збільшення – в 1,5–2 рази – рівня метаболітів ОА в сироватці крові тварин з радіаційними ураженнями шкіри в позитивній фазі можна розглядати як захисну реакцію на тлі виснаження АО-захисту в проліферативному та запальному періодах ранового процесу, зокрема, ферментів – СОД та каталази, а також накопичення у виразці патогенної мікрофлори [9]. Підвищення вмісту ОА відзначалося в проліферативній та запальній фазах перебігу ранового процесу. Однак висока концентрація продуктів ПОЛ, АФК, зокрема, пероксиду, в цей період створює умови для утворення пероксинітритів, які є надзвичайно агресивними радикалами, здатними пошкоджувати ДНК клітин,

викликати мутації та загибель не лише мікробів, а й клітин тканин променевої виразки, що, в свою чергу, ускладнює загоєння МПУ.

При локальній дії ФДТ на поверхню променевих виразок відбувається активація синтезу ОА з надходженням його до кровотоку та системною дією.

Підвищення рівня метаболітів ОА на 7-му добу після ФДТ та нормалізація показників у решту термінів спостереження (14-та–45-та доба) з активацією репаративних процесів у рані можна пов'язати з вираженим антимікробним ефектом (95–100 % мікробів гине на поверхні променевої виразки вже через 24 год після сеансу ФДТ), стимуляцією неоангіогенезу, проліферації та диференціювання кератиноцитів та фібробластів, а також з суттєвим відновленням активності АО-ферментів, що приводило до прискорення процесів загоєння променевої виразки, як свідчать результати наших попередніх досліджень та літературні дані [150].

В цілому, метод ФДТ можна розглядати як засіб, здатний впливати на утворення та метаболізм ОА, його рівень у плазмі крові, клітинах та тканинах, що робить істотний внесок у прискорення загоєння променевих виразок.

4.2.4 Стан коагуляційного потенціалу в сироватці крові при місцевому впливі ФДТ на інфіковані *Staphylococcus aureus* променеві виразки шкіри у щурів

Для визначення стану коагуляційної ланки системи гемостазу щурів при локальному іонізуючому опроміненні шкіри стегна з подальшим інфікуванням МПУ та після лікування за допомогою ФДТ вивчали чотири найбільш інформативні показники коагуляційної ланки системи гемостазу: активований парціальний тромбoplastиновий час (АПТЧ), що характеризує внутрішній шлях згортання крові; протромбіновий час (ПЧ) – демонструє час перебігу згортання крові за зовнішнім шляхом; тромбіновий час (ТЧ), що свідчить про кінцеву фазу коагуляційного каскаду – перетворення фібриногену на фібрин, а також кількість

фібриногену.

Дані про стан системи коагуляційного гемостазу у піддослідних тварин наведені у таблиці 4.13.

З наведених даних видно, що у групі тварин з локальним опроміненням стегна в дозі 85,0 Гр і подальшим розвитком променевої виразки практично протягом усього періоду спостережень (7-ма – 30-та доба) простежувалося зрушення коагуляційного потенціалу крові у бік гіперкоагуляції – основні показники коагулограми (АПТЧ, ПЧ, ТЧ) були достовірно знижені відносно норми – на 16 – 28 % ($p < 0,05$). При цьому концентрація фібриногену була вища за норму на 39,0 % ($p < 0,05$). Гіперкоагуляційна спрямованість підтверджувалася достовірним скороченням всіх хронометричних показників, які характеризують перебіг двох фаз згортання крові за внутрішнім і зовнішнім шляхами активації.

Таблиця 4.13

Вплив ФДТ на показники системи гемостазу у експериментальних тварин з локальним опроміненням у дозі 85,0 Гр та інфікуванням променевого дефекту *S. aureus*

Група	Показник	Інтактний контроль (n = 6)	Термін спостереження після інфікування / після опромінювання, д				
			7 – 14	14 – 21	21 – 28	30 – 37	45 – 52
1	2	3	4	5	6	7	8
Летальна доза 85,0 Гр (n = 25)	АПТЧ (с), %	23,26 ± 0,24	15,61 ± 1,09*	15,43 ± 1,14*	16,83 ± 1,37*	16,07 ± 1,09*	20,33 ± 1,42*
	ПЧ (с), %	15,01 ± 0,33	13,84 ± 0,47*	20,84 ± 0,61*	12,61 ± 0,71*	15,87 ± 1,85*	15,04 ± 0,68*
	ТЧ (с), %	24,61 ± 0,26	22,97 ± 1,29	20,17 ± 1,79*	17,73 ± 1,23*	16,94 ± 1,*	18,87 ± 0,49*
	Фібріноген (г / л), %	1,36 ± 0,05	1,33 ± 0,13	1,14 ± 0,23*	1,89 ± 0,07 *	1,96 ± 0,55*	2,1184 ± 0,14*
Летальна доза 85,0 Гр + <i>S. aureus</i> (n = 25)	АПТЧ (с), %	23,26 ± 0,14	12,67 ± 1,08*	18,79 ± 1,34 *	17,69 ± 0,72 *	19,83 ± 1,19	14,93 ± 0,12 *, * [†]

Продовження таблиці 4.13

1	2	3	4	5	6	7	8
Летальна доза 85,0 Гр + S. aureus (n = 25)	АПТЧ (с), %	23,26 ± 0,33	12,67 ± 1,08*	18,79 ± 1,34 *	17,69 ± 0,72 *	19,83 ± 1,19	14,93 ± 0,12 *, *
	ПЧ (с), %	15,01 ± 0,25	16,41 ± 1,32	17,67 ± 0,62 *	19,73 ± 1,17*, *	13,93 ± 0,61	11,34 ± 0,63 *, *
	ТЧ (с), %	24,61 ± 0,36	25,33 ± 1,13	17,17 ± 0,78 *	32,01 ± 1,65*, *	22,51 ± 0,39 *	19,27 ± 1,44 *
	Фібриноген (г / л), %	1,36 ± 0,15	2,12 ± 0,24*, *	1,93 ± 0,13*, *	1,30 ± 0,26 **	2,34 ± 0,17 * *	2,094 ± 0,08 *, *
Летальна доза 85,0 Гр + S. aureus (n = 25) + ФДТ	АПТЧ (с), %	23,26 ± 0,33	13,55 ± 0,98 *	20,47 ± 1,27	21,14 ± 0,93 †	23,53 ± 1,39	22,23 ± 1,26
	ПЧ (с), %	15,01 ± 0,27	16,04 ± 0,94	15,17 ± 0,71	14,81 ± 1,13 †	16,37 ± 0,79	14,57 ± 0,59
	ТЧ (с), %	24,61 ± 0,29	16,4 ± 1,29 †	24,07 ± 1,18 †	26,64 ± 1,07 †	24,02 ± 1,07 †	22,66 ± 1,32

Продовження таблиці 4.13

1	2	3	4	5	6	7	8
Летальна доза 85,0 Гр + S. aureus (n = 25) + ФДТ	ТЧ (с), %	24,61 ± 0,29	16,4 ± 1,29 †	24,07 ± 1,18 †	26,64 ± 1,07 †	24,02 ± 1,07	22,66 ± 1,32
	Фібриноге н (Г / л), %	1,36 ± 0,15	1,31 ± 0,44 †	1,43 ± 0,14 †	1,29 ± 0,12	1,46 ± 0,19 †	1,47 ± 0,18 †

Примітка:

* – вірогідність відмінностей між показниками інтактною та дослідною груп ($p < 0,01$);

* – вірогідність відмінностей між показниками групи з локальним опроміненням та групи з локальним опроміненням та інфікуванням ($p < 0,05$);

† – вірогідність відмінностей між показниками групи з локальним опроміненням та інфікуванням та аналогічною групою з ФДТ ($p < 0,05$).

Наприкінці дослідження (45-та доба) спостерігалася нормалізація показників АПТЧ і ПЧ. Показник ТЧ, що характеризує кінцевий етап функціонування системи згортання крові, залишався зниженим на 23,3 % ($p < 0,05$) на тлі істотного збільшення концентрації фібриногену більш ніж у півтора рази (155,1 % від норми, $p < 0,05$), що також свідчило про збереження високого рівня надмірного тромбоутворення.

Аналіз усіх отриманих даних свідчить про високий рівень гіперкоагуляції з окремими ознаками розбалансування фаз згортання крові у бік зниження згортання крові протягом перших строків спостереження та превалюванням гіперкоагуляції та вираженим зростанням гіперкоагуляційних тенденцій у подальші строки аж до кінця спостережень (45-та доба).

Як видно з таблиці 4.13, штучне інфікування МПУ штамом *S. aureus* змінювало функціонування системи згортання крові у тварин з локальним опроміненням стегна.

При цьому тести, що відображають швидкість перебігу початкових етапів коагуляційного каскаду за зовнішнім та внутрішнім шляхами активації згортання крові (показники АПТЧ і ПЧ), протягом 30-ти діб після інфікування практично не відрізнялися від таких у тварин з локальним опроміненням, для яких характерним був стан гіперкоагуляції.

Фазові зміни часу утворення повноцінних фібринових згустків в інфікованих тварин відбувалися на тлі більш істотних, ніж у групі з лише локальним опроміненням, змін концентрації фібриногену. Вміст фібриногену в середньому перевищував нормальні значення на 42–72 %, що підтверджувало гіперкоагуляційну спрямованість змін в системі коагуляційного гемостазу в групі тварин з інфікуванням.

На момент завершення дослідження (45-та доба) жодний з показників, що характеризують стан коагуляційного гемостазу, не відновлювався.

Інфікування променевої виразки культурою *S. aureus* викликало порушення (розбалансування) в системі згортання крові (табл. 4.13).

Таким чином, інфікування МПУ *S. aureus* значно посилювало розлад

системи гемостазу в усі терміни спостережень.

Проведення сеансу ФДТ істотно впливало на коагуляційну ланку системи гемостазу у тварин з інфікованими променевими виразками.

У тварин з виразками, інфікованими *S. aureus*, та застосуванням ФДТ на початку спостережень (7-ма доба), відмінності показників коагуляційної ланки системи гемостазу у дослідній і контрольній групах були мінімальними. Але вже з 14-ї доби спостережень вплив ФДТ на систему коагуляційного гемостазу набував позитивної динаміки, що проявлялося поступовим відновленням хронометричних параметрів згортання крові (показники АПТЧ, ПЧ, ТЧ). З 21-ої доби й до кінця спостережень (45-та доба) практично всі досліджувані показники коагуляційного гемостазу в даній групі достовірно не відрізнялися від таких у групі здорових тварин.

Особливо треба відзначити, що кількість фібриногену у цій групі весь період спостережень практично не змінювалася і залишалася на рівні нормальних значень.

В цілому, пострадіаційні порушення системи гемостазу після локального опромінення носять гіперкоагуляційний характер, що виражається в скороченні часу процесу згортання крові, особливо за внутрішнім шляхом активації. Підвищений рівень фібриногену в крові експериментальних тварин свідчить про загрозу розвитку синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ-синдрому), яка зберігається й до кінця періоду спостережень.

Виявлене поглиблення розладу системи згортання крові при інфікуванні МПУ патогенними мікроорганізмами, зокрема *S. aureus*, очевидно, можна пояснити додатковою пошкоджуючою дією продуктів цих мікроорганізмів на судинну стінку. Антибактеріальна ФДТ, усуваючи мікробний фактор, приводить до відновлення стану системи коагуляційного гемостазу в обох дослідних групах.

Раннє та активне відновлення коагуляційної ланки системи гемостазу в групі тварин, інфікованих *S. aureus*, очевидно, пов'язане з тим, що екзотоксини

грампозитивних бактерій продукуються тільки живими клітинами, а це може пояснювати усунення їх впливу на систему гемостазу незабаром після проведення сеансу ФДТ [147].

В цілому, антибактеріальний ефект ФДТ супроводжується позитивною динамікою і повним відновленням коагуляційної ланки системи гемостазу.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Злоякісні пухлини в ХХІ столітті є провідною причиною смерті та єдиним найважливішим бар'єром на шляху до збільшення тривалості життя в кожній країні світу [27].

Променева терапія – один із методів лікування хворих зі злоякісними пухлинами різної локалізації, який передбачає застосування іонізуючого випромінювання. У світі, згідно з даними Міжнародної агенції з атомної енергії, нараховується понад 7600 центрів ПТ. Використання сучасних високоефективних схем ПТ може супроводжуватися розвитком променевих змін як в організмі в цілому, так і в здорових органах і тканинах, що неминуче потрапляють до зони променевого впливу. Тяжкість будь-яких променевих ушкоджень збільшується з підвищенням дози іонізуючого випромінювання [29–31].

Так, при проведенні ПТ хворим на РГЗ у більшості з них виникають клінічні прояви з боку шкіри, які поділяють на променеві реакції чи променеві ушкодження. До променевих реакцій шкіри відносять зміни, які поступово зникають самі або після відповідного лікування, променеві ж ушкодження характеризуються стійкими необоротними змінами шкіри, що значно утруднює їх лікування.

За часом виникнення променеві ушкодження шкіри поділяють на ранні та пізні. Ранні виникають в процесі променевої терапії або в перші 3 місяці після неї, пізні – через 3 місяці та пізніше.

Лікування пізніх МПУ шкіри часто є набагато важчим, ніж ранніх, бо в пізній період як у шкірі, так і в підлеглих тканинах, вже сформувалися стійкі дистрофічні та деструктивні зміни, здійснилася загибель багатьох клітин та їх заміщення сполучною тканиною з формуванням зон фіброзу або склерозу

шкіри. Тому такою важливою проблемою стає розробка методів профілактики розвитку та лікування променевих дефектів шкіри.

Клінічні спостереження за перебігом МПУ дають підставу вважати, що фотоманітна терапія справляє значну лікувальну та профілактичну дію на патологічні процеси в опроміненій шкірі [118, 119].

Вивчення впливу фотоманітної терапії на перебіг ранніх МПУ здійснювали з використанням матричного фотоманітного приладу “Барва-Флекс/Маг” з червоними фотодіодами, який застосовували щодня паралельно з сеансами стандартної променевої терапії. Оцінку шкірних проявів проводили за системою Національного Інституту Раку США (NCI)[66]. Згідно з цією класифікацією вирізняють 5 ступенів тяжкості МПУ.

Проведені дослідження показали, що використання ФМТ в період проведення ПТ дозволило знизити ступінь тяжкості радіаційно-індукованих шкірних реакцій порівняно з референтною групою, де ушкодження досягали II ступеня тяжкості, а в однієї хворої початкова фаза відповідала III ступеню.

У хворих, які отримували ФМТ, реакції шкіри не перевищували I ступеня, мінімізувався дискомфорт, відбувалося раннє зникнення шкірних дефектів.

Можна вважати, що використання ФМТ у період проведення променевої терапії для запобігання або мінімізації променевих реакцій шкіри в зоні опромінювання продемонстрували достатньо високий потенціал цього методу.

Таким чином, у хворих, які отримували ФМТ, значно послаблялися та швидко зникали променеві реакції шкіри. Фотоманітна терапія мінімізувала дискомфорт, сприяла пришвидшенню регенерації, полегшувала перебіг місцевих променевих ушкоджень, відсувала час появи розвитку МПУ та прискорювала їх загоювання.

Як показано у нашому дослідженні, ця позитивна дія ФМТ на опромінену шкіру реалізувалася завдяки поліпшенню метаболізму в сполучній

тканині. Про це свідчили показники метаболізму колагену та позаклітинного матриксу у хворих до та після ПТ.

Для характеристики змін метаболізму в сполучній тканині шкіри під впливом променевої терапії в хворих РГЗ до і після ПТ в сироватці крові визначали показники: сумарний оксипролін і його фракції – вільний і зв'язаний оксипролін; вміст ГАГ і їх фракційний склад, вміст глікопротеїнів і хондроїтинсульфатів.

Проведення курсу ПТ в пацієток контрольної групи значно підсилювало запальні реакції, про що свідчило різке підвищення рівня сироваткових глікопротеїнів, а також ініціювало деструктивні процеси в шкірі та підлеглих тканинах в опромінених зонах. На активацію деструктивних процесів вказувало підвищення вільного оксипроліну (показник розпаду колагену) та основних метаболитів міжклітинного матриксу сполучної тканини – сумарних сироваткових ГАГ і хондроїтинсульфатів – в 2 - 3 рази щодо первісних значень.

У пацієток основної групи, які паралельно з курсом ПТ отримували ФМТ, подібних змін в метаболізмі сполучної тканини не відбувалося. У цих хворих всі вивчені показники метаболізму сполучної тканини свідчать про збереження нормального стану шкіри та підтримку оптимального співвідношення катаболічних і анаболічних процесів при ушкоджувальній дії радіаційного чинника. Ознак надмірного синтезу колагену чи ГАГ, що можуть накопичуватися в опроміненій шкірі, у хворих з ФМТ також не було зафіксовано. Тобто, фотомагнітна дія на шкіру хворих РГЗ в період проведення променевої терапії знижує ступінь втручання радіаційного чинника в метаболізм колагену та позаклітинного матриксу шкіри, запобігає її фібротизації і розвитку передумов для виникнення променевого фіброзу.

Треба відзначити, що застосування фотомагнітної терапії позитивно впливало на системному рівні на загальний стан організму.

Вивчення стану загортальної системи крові та фібринолізу у хворих, які отримували ФМТ, також показало наявність позитивного впливу цього методу

лікування. У хворих після курсу фотоманітного лікування значно знижувався рівень гіперкоагуляції, нормалізувалася фібринолітична ланка гемостазу, що мінімізувало ризик розвитку тромбоемболічних ускладнень, притаманних цьому контингенту хворих, особливо при променевої терапії.

Таким чином, ФМТ може стати перспективним методом профілактики променевого фіброзу шкіри для хворих, які одержують променеву терапію.

Метод фотоманітної терапії було впроваджено у практику відділення променевої патології для профілактики та лікування радіоіндукованих ушкоджень шкіри у хворих на рак грудної залози під час променевого лікування.

Метою експериментальної частини дисертаційної роботи було підвищення ефективності лікування інфікованих променевих ушкоджень шкіри шляхом розробки нового методу з використанням фотодинамічної терапії окремо, а також в комбінації зі збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP) [8–11].

Для досягнення цієї мети треба було створити ефективну схему антимікробної ФДТ. Схема ФДТ була розроблена на підставі визначення оптимальних фізичних параметрів світлового впливу у червоній частині спектру (630 нм) та дії різних довжин хвиль монохроматичного електромагнітного випромінювання в оптичному діапазоні для досягнення фотодинамічного ефекту з урахуванням ступеню деконтамінації.

Водночас, при розробці ефективної схеми антимікробної ФДТ потрібно було підібрати фотосенсибілізатор, який би відповідав властивостям вивчаємого випромінювання та був б доступний та зручний у використанні. Таким фотосенсибілізатором став метиленовий синій.

Для визначення оптимальних параметрів світлового випромінювання (630 нм) та фотосенсибілізатору метиленового синього були проведені експерименти *in vitro*, де були визначені оптимальна концентрація фотосенсибілізатору метиленового синього, тривалість його експозиції, густина потоку енергетичного випромінювання (Вт/см²), а також час впливу

червоним світлом та монохроматичним випромінюванням з різними довжинами хвиль в оптичному діапазоні.

Ступінь деконтамінації при дії вивчаємих факторів визначали на циркулюючому штамі *S. aureus* у чашці Петрі. В подальшому в експериментах *in vivo* у вигляді складових частин ФДТ використовували фотосенсибілізатор метиленовий синій та світлодіодне випромінювання в червоній частині спектру (630 нм).

У першу чергу антимікробну ефективність розробленої схеми ФДТ оцінювали в експериментах *in vitro*. У цих експериментах вивчали ступень деконтамінації відібраного штаму мікроорганізмів у чашці Петрі при дії ФДТ. Для цієї та подальшої роботи був відібраний найбільш поширений та характерний для раньової інфекції штам патогенних мікробів – *Staphylococcus aureus*, який отримували з музею живих мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова НАМН України».

Розроблена схема ФДТ була випробувана в експериментах *in vivo* на щурах з інфікованими променевими ушкодженнями шкіри. Опромінена поверхня шкіри тварин була інфікована тим самим музейним штамом *S. aureus*, який був отриманий з музею живих мікроорганізмів Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова. Проведені експерименти показали, що лише один сеанс ФДТ на інфіковану ділянку шкіри сприяє 100% елімінації з поверхні променевого ушкодження шкіри застосованих для інфікування грампозитивних мікроорганізмів (*S. aureus*).

Проведене дослідження продемонструвало принципову можливість високої антибактеріальної активності ФДТ по розробленій схемі з використанням одного сеансу ФДТ.

Наступними завданнями дослідження було встановити, як ефективність знищення мікробів (повна елімінація) та дія ФДТ впливає на перебіг експериментальних інфікованих променевих ушкоджень шкіри та їх загоювання.

Клінічні та планіметричні спостереження свідчать, що розвиток та перебіг МПУ суттєво залежить від наявності або відсутності інфекційного агенту.

Так, на розробленій експериментальній моделі МПУ показано, що локальне рентгенівське опромінення стегна щурів в дозі 85,0 Гр у 75 % тварин викликало розвиток променевиx виразок. Спонтанне загоювання їх було досить повільним і за час проведення експерименту не призводило до повного візуального зникнення променевиx дефектів майже у половини тварин.

Додаткове інфікування МПУ *S. aureus* негативно впливало на динаміку перебігу МПУ. Це проявлялося у збільшенні частоти розвитку променевиx виразок (до 92,0 %), збільшенні їх площі в середньому в 1,5 разів та відсутності повного спонтанного загоювання у жодному випадку. Кількість тварин зі збереженими променевими виразками була в середньому вище у 2 – 3 рази в інфікованих групах, у порівнянні з неінфікованим контролем.

Застосування ФДТ в групах з інфікованими променевими виразками справляло позитивний ефект не тільки на деконтамінацію, але й на перебіг променевиx дефектів. Після ФДТ прискорювалися темпи загоювання інфікованих виразок, коли наприкінці експерименту відзначалося їх повне загоювання.

В цілому, можна констатувати, що ФДТ справляла значну лікувальну та профілактичну дію на патологічні процеси в опроміненій шкірі, що можна пояснити ефективним усуненням обтяжуючих перебіг МПУ факторів, тобто наявності мікробів, так і безпосередньою дією ФДТ та прискоренням репараційних процесів, а саме – поліпшенням мікроциркуляції, реологічних властивостей крові та інше [108–113].

Візуальні спостереження змін площі променевого дефекту проводились у комплексному дослідженні патоморфозу шкіри та підлеглих тканин при спонтанному загоюванні променевиx виразок, при їх інфікуванні штамами патогенних мікроорганізмів та при застосуванні окремо ФДТ та ФДТ+PRP.

Аналіз результатів нашого комплексного морфологічного дослідження показав, що в усіх групах у щурів під впливом променевого фактору створювався великий та глибокий рановий дефект – виразка, будова та процеси загоювання якої залежали як від стану її після інфікування, після лікування ФДТ, так і від строку експерименту.

У тварин з «чистою» променевою виразкою процеси її загоювання були значно сповільнені, що було відзначено нами на підставі аналізу гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, пікрофуксином по ван Гізону, а також при морфометричному вимірюванні в різні строки експерименту площини вертикального перетину ранової порожнини, питомих об'ємів основних структурних компонентів ранової порожнини, відносних об'ємів імунних клітин, оптичної щільності імунофлюоресценції зрілого колагену I типу і молодого інтерстиціального колагену III типу.

У «чистій» виразці порушення репараційних процесів, виражене хронічне запалення та розвиток некрозу обумовлювали довготривале загоювання виразки. В інфікованих променевих виразках процеси загоювання суттєво гальмувалися, що виявлялось збільшенням кількості некротичних вогнищ, більш повільним відторгненням лейкоцитарно-некротичного шару і вираженим зменшенням площі вертикального перетину ранової порожнини, порушенням процесів колагеноутворення, відсутністю у пізні строки сполучної тканини.

У тварин з інфікованими променевими виразками, які отримували ФДТ, під впливом фотодинамічної терапії репаративні процеси у променевій шкірній виразці проходили усі класичні стадії, однак, тривалість кожної з них значно скорочувалася.

При дії фотодинамічної терапії відзначено повне загоювання шкірних виразок на 52 добу експерименту у щурів після ФДТ, чого нами не було відзначено як у щурів з «чистою» променевою виразкою, так і у тварин з інфікованими виразками.

Подальше проведення мікроскопічного та ІГХ-дослідження інфікованої *S. aureus* променевої виразки при проведенні комбінованої терапії дозволило дати морфологічну оцінку загоєння виразки в умовах комбінації ФДТ з обколюванням периферії раньового дефекту збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP). Отримані дані свідчать про виражений (порівняно лише з ФДТ) ранозагоюваний ефект проведеної комбінованої місцевої терапії (ФДТ+PRP) інфікованої променевої виразки шкіри з підлеглими тканинами, що призвело до її органотипового загоєння.

В групі променева виразка + інфікування + ФТД + PRP, порівняно з групою променева виразка + інфікування + ФТД відбувалося більш інтенсивне очищення рани від некротизованих тканин, спостерігалися більш активні процеси дозрівання грануляційної тканини і перетворення її на сполучну тканину, у той же час грануляційна тканина характеризувалася більш активним ангиогенезом. З інших позитивних ефектів треба відмітити швидшу епітелізацію поверхні регенерату та збалансованість апоптотичних та проліферативних процесів.

Таким чином, у підсумку можна встановити, що отримані позитивні ефекти проведеного лікування зумовлені не тільки ФДТ, а й використанням збагаченої тромбоцитами плазми, яка, як відомо, характеризується наявністю великої кількості біологічно активних речовин.

З нашої точки зору, фотодинамічна терапія променевих виразок шкіри забезпечує активізацію процесів очищення ранової порожнини від некротизованих тканин, пригнічує мікроорганізми у рановій порожнині (має антибактеріальну дію), а також посилює репаративні процеси. Позитивний ефект даної терапії відзначався багатьма науковцями при лікуванні венозних трофічних виразок та інше [114–117].

Таким чином, у даній роботі проведено комплексне морфологічне дослідження з використанням гістологічних, гістохімічних та морфометричних методів дослідження, що дозволило дати об'єктивну оцінку структурно-функціональному стану ранового дефекту, викликаного

променевим пошкодженням, з оточуючим його епідермісом, дермою, гіподермою, з підлеглою м'язовою тканиною; ранового дефекту, викликаного променевим пошкодженням та інфікованого *Staphylococcus aureus*; встановити вплив ФДТ та комбінованої терапії (ФДТ+PRP) на процеси загоювання інфікованих *Staphylococcus aureus* раньових дефектів, викликаних променевим пошкодженням.

Результати проведених морфологічних та мікробіологічних досліджень переконливо показали, що антимікробна ФДТ має значну місцеву дію на променеве ушкодження шкіри.

Системну відповідь організму при місцевій дії іонізуючої радіації оцінювали по стану деяких показників основних систем гомеостазу: рівню ПОЛ, активності основних АО-ферментів (СОД і каталази) та рівню метаболітів оксиду азоту.

При вивченні процесів ПОЛ було показано, що як у тварин тільки з променевою виразкою, так і з інфікованими виразками, розвивався виражений синдром пероксидації. Про це свідчив підвищений рівень показників стану ПОЛ – дієнових кон'югатів у 2 – 3 рази і малонового діальдегіду у 1,5 – 2 рази від норми. Водночас була майже вдвічі пригнічена активність основних ферментів антиоксидантного захисту супероксидісмутази та каталази. Найбільш виражені зміни активності ПОЛ і АО-системи відзначені в групах опромінених тварин з подальшим інфікуванням променевого ушкодження шкіри, що обумовлено збільшенням стресового навантаження і посиленням надходження в кров факторів, що ініціюють гіпероксидацію (іонізуюча радіація, мікробна інтоксикація). У міру прогресування патологічного процесу з часом (МПУ шкіри, інфіковані рани) відзначалось наростання оксидативних реакцій і зростання напруженості у функціонуванні АО-захисту.

Лікування з застосуванням ФДТ показало, що фотодинамічний вплив сприяв нормалізації оксидативного стресу у вигляді нормалізації вмісту МДА і підвищенню антиоксидантного потенціалу крові, що виражалось у збільшенні активності СОД і каталази до нормального рівня.

Треба відзначити, що рівень ДК у лікованих тварин і після проведення ФДТ залишався підвищеним. Це може бути пов'язано як з особливостями методу лікування, а саме з продукуванням синглетного кисню, супероксидних радикалів та інших продуктів фотодинамічної дії, що забезпечують загибель бактерій і посилюють утворення ДК, так і з недостатністю проведення тільки одного курсу ФДТ. Тем не менш, відновлення і навіть активація антиоксидантного захисту дозволяє компенсувати прояви синдрому пероксидації.

Відзначений стан антиоксидантного потенціалу периферичної крові свідчить про активацію антирадикального і недостатню активацію антиперекисного захисту після ФДТ. Для посилення антиперекисного захисту бажано проведення екзогенної корекції АО-захисту, особливо її антиперекисної ланки.

Також одним з важливих медіаторів оксидативного стресу може бути оксид азоту, який в умовах активації вільнорадикального окиснення поєднується з вільними радикалами кисню, наприклад, з супероксидом, та створювати небезпечний радикал пероксинітрид [186]. З одного боку, ОА є необхідним елементом ендогенного антибактеріального механізму крові, оскільки він приймає активну участь у знищенні збудників інфекційних процесів, до того ж він є одним з факторів, який сприяє процесам загоєння рані і підсилення мікроциркуляції, але з іншого боку його надлишок як вільного радикалу може пошкоджувати клітини та тканини [187].

Було показано, що розвиток місцевого променевого ушкодження шкіри супроводжувався підвищенням рівня метаболітів оксиду азоту у сироватці крові опромінених щурів протягом усього періоду спонтанного загоювання. Інфікування променевої травми шкіри *S. aureus* ще більш підвищувало сироватковий вміст продуктів ОА, в окремі строки спостережень майже вдвічі. Очевидно, це відбувалося за рахунок підвищеного синтезу та викиду цих сполук з імунокомпетентних клітин крові, стимульованих внесеним інфекційним агентом. Також підвищенню рівня метаболітів оксиду азоту може

сприяти виснаження АО-захисту. Тобто, з одного боку, підвищення рівня ОА в крові можна розцінювати як компенсаторну реакцію на появу інфекційних збудників та МПУ, а з іншого – як фактор підсилення пероксидації в організмі.

Застосування ФДТ викликало помірне зниження до нормального рівня метаболітів ОА в інфікованих тварин після лікування, очевидно, як за рахунок зниження мікробної інтоксикації, прискорення загоєння МПУ та виходу нових генерацій нейтрофілів у ці строки, так і за рахунок підвищення активності антиоксидантних ферментів.

Про позитивний вплив ФДТ на загальний стан організму тварин з інфікованими МПУ свідчать також зміни у стані периферичної крові.

Локальне опромінення у дозі 85,0 Гр викликало у тварин характерне для радіаційного впливу пригнічення кровотворення, що проявлялося у розвитку помірної анемії та більш тривалої глибокої лейкопенії, виражені у першій період спостережень. Слід враховувати, що в зону дії іонізуючого випромінювання попадав епіфіз стегнової кістки, тобто досить значна ділянка кістково-мозкового кровотворення. Крім того, механізм еритропенії у даному випадку може бути пов'язаний з мікроангіопатичним гемолізом на тлі розвитку та поглиблення некрозу опроміненої ділянки шкіри.

Штучне інфікування променевиких виразок бактерією *S. aureus* викликало погіршення стану червоної крові, що проявлялося у наявності стабільної анемії в інфікованих групах увесь період спостережень.

Більш складні зміни спостерігалися з боку білої крові, що обумовлювалося наявністю інфекції.

На початку спостережень загальна кількість лейкоцитів в опромінених та інфікованих тварин була вище, ніж у контрольній групі з неінфікованим МПУ, а саме майже на рівні норми. Це можна пояснити тим, що у відповідь на додаткове інфекційне подразнення відбувається захисна реакція у вигляді зростання кількості лейкоцитів. Це підвищення рівня лейкоцитів у інфікованих тварин у ранній період після інфікування можна трактувати як спробу організму активізувати імунну відповідь на інфекцію, однак подальший розвиток лейкопенії

свідчить про неповноцінність цієї реакції внаслідок виснаження кістковомозкового кровотворення.

Застосування ФДТ значно впливало на стан показників периферичної крові в обох інфікованих групах. Тенденція до анемії спостерігалася тільки у ранні строки (7 – 14 д), а у подальшому ці показники не відрізнялися від рівня норми в обох досліджених групах.

Рівень лейкоцитів після дії ФДТ у перші терміни спостереження (7, 14 та 21 д) у порівнянні з відповідною контрольною інфікованою групою був достатньо низьким за рахунок зниження мікробної інтоксикації на тлі деконтамінації мікробів.

У подальші терміни кількість лейкоцитів відновлювалася до рівня здорових тварин.

З літератури та проведених досліджень [143, 144] відома позитивна загальносистемна дія червоного світла, також відома його дія на патоморфоз МПУ з усуненням запальних та некротичних процесів з відновленням мікроциркуляції та кровообігу [22, 23]. Зниження фактора хронічної токсемії також є одним з патогенетично обґрунтованих механізмів, що впливають на відновлення показників периферичної крові.

Відновлення стану периферичної крові у тварин з інфікованими МПУ, які отримали вплив ФДТ, супроводжувалось відновленням системи коагуляційного гемостазу. Ця система зазнавала значних зрушень у контрольних нелікованих групах тварин. Так, у щурів з МПУ був зафіксований поступовий розвиток гіперкоагуляції, про що свідчили такі показники, як скорочення часу згортання крові, високий рівень фібриногену та інші, що в цілому вказувало на загрозу розвитку ДВЗ-синдрому.

Інфікування МПУ *S. aureus* значно поглиблювало розлади системи згортання крові. Це пояснюється властивостями цих мікроорганізмів. Так, *S. aureus* відноситься до класу коагулозапозитивних бактерій, які здатні виробляти ферменти, зокрема, коагулазу, для змін у мікросередовищі і створенні сприятливих умов для росту бактерій. Паралельно коагулаза зв'язується з

протромбіном, викликає його активацію і перетворення фібриногену в фібрин (основний елемент тромбу), що збільшує коагуляційний потенціал крові макроорганізму [188].

Антибактеріальна ФДТ усувала мікробний фактор, що призводило до відновлення стану системи коагуляційного гемостазу в дослідних групах. Ці процеси відбувалися поступово, так що у тварин, інфікованих *S. aureus*, відновлення усіх показників коагуляційного гемостазу відзначали тільки на 14 д після ФДТ. Це може бути пов'язано з триваючою дією метаболітів бактерій і їх токсинів.

Таким чином, позитивні ефекти антибактеріальної ФДТ включали також і повне відновлення коагуляційної ланки системи гемостазу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для профілактики ранніх променевих уражень шкіри та підшкірної клітковини при проведенні сеансів променевої терапії доцільно проводити сеанси фотоманітної терапії (ФМТ) на ділянку опромінення для поліпшення стану кровообігу, регенерації клітин шкіри, зменшення набряку та болю. При пізніх променевих ураженнях (променеві виразки) для очищення від некротичних тканин та пошкоджених клітин доцільно застосовувати фотодинамічну терапію (ФДТ) – спосіб, заснований на спільному використанні фотосенсибілізатора (метиленового синього), нанесеного на поверхню шкіри з наступним впливом лазерного світла довжиною хвилі 630-660 нМ, та її комбінацію зі збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP) з метою підвищення репаративних властивостей методу.

Доцільно проводити повторні сеанси фотодинамічної терапії з метою пришвидшення очищення порожнини променевої виразки від інфекційного агента, доповнюючи лікування хірургічним етапом – проведенням аутотрансплантації клаптем з осьовим кровообігом.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі запропоновано нове рішення проблематики тактики ведення онкологічних хворих, що отримують променеву терапію шляхом розробки підходів щодо удосконалення профілактики ранніх і підвищення ефективності лікування пізніх променевих ушкоджень шкіри на підставі вивчення ефектів фотоманітної та фотодинамічної терапії.

1. На підставі клінічних досліджень хворих на РГЗ, які отримували променеву терапію, встановлено, що ФМТ знижувала частоту виникнення тяжких променевих реакцій шкіри, сприяла полегшенню їх перебігу, викликала відсунення термінів появи МПУ та прискорення їх загоювання. Показано, що ФМТ у хворих на РГЗ під час ПТ сприяла збереженню співвідношення катаболічних і анаболічних процесів в сполучній тканині шкіри без ознак надмірного синтезу колагену та ГАГ, що свідчить про відсутність передумов для розвитку фібротизації шкіри у віддаленому періоді. Доведено позитивну дію ФМТ на системному рівні, про що свідчила нормалізація гемостазу з відновленням балансу між коагуляційною та фібрінолітичною його ланками.

2. Проведений комплексний аналіз та дослідження особливостей впливу ФМТ дозволили зробити висновок, що фотоманітний вплив на шкіру після опромінювання є перспективним профілактичним та лікувальним методом для хворих, які отримують променеву терапію, для запобігання віддаленим наслідкам дії іонізуючої радіації, зокрема, променевого фіброзу шкіри. Таким чином, можна рекомендувати метод фотоманітної терапії з метою профілактики МПУ шкіри для онкологічних хворих, які одержують променеву терапію.

3. В експериментальній частині дослідження доведено, що інфікування променевих виразок суттєво сповільнювало їх загоювання: зменшувало площу вертикального перетину ранової порожнини; сповільнювало відторгнення лейкоцитарно-некротичного шару; затримувало появлення грануляційної тканини; порушувало колагеноутворення. В той час, як застосування ФДТ ($\lambda =$

630-660 нм, ФС метиленовий синій) у тварин з інфікованими променевими ушкодженнями шкіри значно прискорювало темпи їх загоювання, зменшувало площу ранового дефекту, забезпечувала активізацію процесів очищення ранової порожнини від некротизованих тканин, посилювала репаративні процеси шляхом активації колагенуотворення, забезпечувала у пізні строки заповнення ранової порожнини сполучною тканиною із шкірними придатками.

4. Застосування ФДТ в 99 % спостережень призводить до повної елімінації мікроорганізмів, що дозволило прискорити темпи загоєння променевих виразок шкіри, інфікованих *Pseudomonas aeruginosa*: повне загоєння променевих виразок відмічене на 52-гу добу тоді як у контрольній групі в цей термін процеси загоєння були виражені мало.

5. Експериментально на щурах з променевими виразками доведено, що застосування комбінованої терапії (ФДТ + ін'єкції плазми, збагаченої тромбоцитами) призвело до більш вираженого (порівняно лише з ФДТ) ранозагоюваного ефекту: інтенсивніше очищувало рани від некротизованих тканин, зменшувало вираження запальних змін, активувало процеси дозрівання грануляційної тканини, її ангиогенезу, прискорювало епітелізацію поверхні регенерату.

6. Вивчення особливостей системної дії ФДТ дозволило виявити позитивні зміни різних ланок гомеостазу: сприяла нівелюванню оксидативного стресу; підвищувала антиоксидантний ферментативний потенціал крові; відновлювала ендогенний антимікробний механізм організму, свідченням чого були нормалізація вмісту метаболітів оксиду азоту в крові інфікованих тварин. Також доведено, що застосування ФДТ позитивно впливало на стан показників периферичної крові в обох інфікованих групах, усувало ознаки анемії та стабілізувало кількість лейкоцитів у межах норми призводило до відновлення системи коагуляційного гемостазу.

7. В результаті проведених досліджень розроблено новий метод лікування інфікованих променевих ушкоджень шкіри з використанням фотодинамічної терапії, підібрані найбільш ефективні параметри складових компонентів ФДТ, а

саме – світлове випромінювання ($\lambda = 630-660$ нм) та фотосенсибілізатор 0,1 % водний розчин метиленового синього. Доведено доцільність комбінування ФДТ зі збагаченою тромбоцитами плазмою (PRP) для підвищення репараційних властивостей лікувального методу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Іванкова ВС, Столярова ОЮ, Барановська ЛМ, Хруленко ТВ, Скоморохова ТВ, Пильнов ВА. Променева терапія XXI століття. *Клиническая онкология*. 2018;8(2): 111-115.
2. Yang X, Ren H, Guo X, Hu C, Fu J. Radiation-induced skin injury: pathogenesis, treatment, and management. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(22):23379-23393. doi:10.18632/aging.103932
3. Wei J, Meng L, Hou X, Qu C, Wang B, Xin Y, Jiang X. Radiation-induced skin reactions: mechanism and treatment. *Cancer Manag Res*. 2018;11:167-177. doi: 10.2147/CMAR.S188655
4. Colbert AP, Wahbeh H, Harling N, Connelly E, Schiffke HC, Forsten C, et al. Static magnetic field therapy: a critical review of treatment parameters. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2009;6(2):133-9. doi: 10.1093/ecam/nem131
5. Salvatore JR, Harrington J, Kummet T. Phase I clinical study of a static magnetic field combined with anti-neoplastic chemotherapy in the treatment of human malignancy: initial safety and toxicity data. *Bioelectromagnetics*. 2003;24(7):524-7. doi: 10.1002/bem.10149
6. Iddins CJ, DiCarlo AL, Ervin MD, Herrera-Reyes E, Goans RE. Cutaneous and local radiation injuries. *J Radiol Prot*. 2022;42(1):10.1088/1361-6498/ac241a. doi:10.1088/1361-6498/ac241a
7. Manna B, Cooper JS. Radiation-Induced Skin Ulcer. 2023 Aug 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024
8. Devirgiliis V, Panasiti V, Fioriti D, Anzivino E, Bellizzi A, Cimillo M, et al. Antibacterial activity of methyl aminolevulinate photodynamic therapy in the treatment of a cutaneous ulcer. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011;24(3):793-5. doi: 10.1177/039463201102400326
9. Назарян РС, Спірідонова КЮ, Піонтковська ОВ, Власов АВ. Фотодинамічна терапія: від давнини до сьогодення. Огляд літератури. *Новини стоматології*. 2015;3(84):66-70.

10. Camões-Barbosa A, Simões H, Mendes M. Low-level laser therapy in the treatment of diabetic ulcers: an evidence problem. *Acta médica portuguesa*. 2011;24(4):875-880.
11. Gobbo M, Rico V, Marta GN, Caini S, Ryan Wolf J, van den Hurk C, et al. Photobiomodulation therapy for the prevention of acute radiation dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Supportive care in cancer*. 2023;31(4):227. doi: 10.1007/s00520-023-07673-y
12. Іванова ЮВ, Граматюк СМ, Криворучко ІА, Зарудний ОО, Мясоедов КВ. Фотодинамічна терапія в лікуванні трофічних виразок у хворих з хронічною венозною недостатністю. *Клінічна хірургія*. 2021;88(7-8):32-38. doi: 10.26779/2522-1396.2021.7-8.32
13. Krupka M, Božek A, Bartusik-Aebisher D, Ciešlar G, Kawczyk-Krupka A. Photodynamic Therapy for the Treatment of Infected Leg Ulcers-A Pilot Study. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(5):506. doi:10.3390/antibiotics10050506
14. Sharma SK, Dai T, Kharkwal GB, Huang YY, Huang L, De Arce VJ, Tegos GP, Hamblin MR. Drug discovery of antimicrobial photosensitizers using animal models. *Curr Pharm Des*. 2011;17(13):1303-19. doi: 10.2174/138161211795703735
15. Raum G, Kenyon C, Bowers R. Platelet-Poor versus Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Muscle Injuries. *Curr Sports Med Rep*. 2024;23(6):222-228. doi: 10.1249/JSR.0000000000001173
16. Dai P, Wu Y, Gao Y, Li M, Zhu M, Xu H, et al. Multiomics analysis of platelet-rich plasma promoting biological performance of mesenchymal stem cells. *BMC Genomics*. 2024;25(1):564. doi: 10.1186/s12864-024-10329-8
17. Hersant B, Sid-Ahmed M, Braud L, Jourdan M, Baba-Amer Y, Meningaud JP, Rodriguez AM. Platelet-Rich Plasma Improves the Wound Healing Potential of Mesenchymal Stem Cells through Paracrine and Metabolism Alterations. *Stem Cells Int*. 2019;2019:1234263. doi: 10.1155/2019/1234263

18. Savari R, Shafiei M, Galehdari H, Kesmati M. Expression of VEGF and TGF- β Genes in Skin Wound Healing Process Induced Using Phenytoin in Male Rats. *Jundishapur J Health Sci.* 2019;11(1):e86041. doi: 10.5812/jjhs.86041
19. Park JW, Hwang SR, Yoon IS. Advanced Growth Factor Delivery Systems in Wound Management and Skin Regeneration. *Molecules.* 2017;22(8):1259. doi:10.3390/molecules22081259
20. Jia C, Lu Y, Bi B, Chen L, Yang Q, Yang P, et al. Platelet-rich plasma ameliorates senescence-like phenotypes in a cellular photoaging model. *RSC Adv.* 2017;7:3152-3160. doi: 10.1039/C6RA26725D
21. Nazari L, Salehpour S, Hoseini S, Zadehmodarres S, Azargashb E. Effects of autologous platelet-rich plasma on endometrial expansion in patients undergoing frozen-thawed embryo transfer: A double-blind RCT. *Int J Reprod Biomed.* 2019;17(6):443-448. doi: 10.18502/ijrm.v17i6.4816
22. Shariati A, Hosseini SM, Chegini Z, Seifalian A, Arabestani MR. Graphene-Based Materials for Inhibition of Wound Infection and Accelerating Wound Healing. *Biomed Pharmacother.* 2023;158:114184. doi: 10.1016/j.biopha.2022.114184
23. Lee I, Moon J, Lee H, Koh S, Kim GM, et al. Photodynamic treatment of multidrug-resistant bacterial infection using indium phosphide quantum dots. *Biomaterials science.* 2022;10(24):7149-7161. doi: 10.1039/d2bm01393b
24. Jaschke W, Schmuth M, Trianni A, Bartal G. Radiation-Induced Skin Injuries to Patients: What the Interventional Radiologist Needs to Know. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2017;40(8):1131-1140. doi: 10.1007/s00270-017-1674-5
25. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer.* 2021; 127(16): 3029-3030. doi:10.1002/cncr.33587
26. Chen S, Cao Z, Prettner K, Kuhn M, Yang J, Jiao L, et al. Estimates and Projections of the Global Economic Cost of 29 Cancers in 204 Countries and Territories From 2020 to 2050. *JAMA Oncol.* 2023;9(4):465-472. doi: 10.1001/jamaoncol.2022.7826

27. Guida F, Kidman R, Ferlay J, Schüz J, Soerjomataram I, Kithaka B, et al. Global and regional estimates of orphans attributed to maternal cancer mortality in 2020. *Nat Med.* 2022;28(12):2563-2572. doi: 10.1038/s41591-022-02109-2
28. Федоренко ЗП, Гулак ЛО, Михайлович ЮЙ, укладачі. Рак в Україні, 2019–2020. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. № 22. Київ; 2021. 134 с.
29. Ковальський ОВ. Радіологія. Променева терапія. Променева діагностика. Київ: Нова книга; 2017. 512 с.
30. Красносельський МВ, Кулініч ГВ, Гладких ФВ. Ускладнення променевої терапії у хворих на рак та зміни гомеостазу. Харків: Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», 2023. 113 с.
31. Москаленко ЮВ, редактор. Клінічна онкологія. Суми: Сумський державний університет; 2020. 212 с.
32. Бондар ГВ, Шевченка АІ, Галайчук ІЙ. Онкологія. 2-е вид., переробл. та допов. Київ: Медицина; 2019. 520 с.
33. Парій ВД, Грищук СМ, Кукіна ГО. Підходи до оцінки медичних технологій на прикладі визначення економічної доцільності профілактики раку шийки матки в Україні шляхом вакцинації від папіломавірусної інфекції. Україна. Здоров'я нації. 2019;1(54):100–108.
34. Мороз ВА. Променеві ушкодження після проведення променевої терапії. Променева діагностика, променева терапія. 2010;1:60–62.
35. Brand RM, Epperly MW, Stottleyer JM, Skoda EM, Gao X, Li S, et al. A topical mitochondria-targeted redox-cycling nitroxide mitigates oxidative stress-induced skin damage. *J Invest Dermatol.* 2017;137:576–86. 10.1016/j.jid.2016.09.033
36. Іванкова ВС, Нестеренко ТМ, Барановська ЛМ, Хруленко ТВ. Лікування і профілактика променевих ускладнень при радіотерапії раку шийки матки. Променева діагностика, променева терапія. 2016;1:60–64.

37. Martin MT, Vulin A, Hendry JH. Human epidermal stem cells: role in adverse skin reactions and carcinogenesis from radiation. *Mutat Res.* 2016;770:349–68. doi:10.1016/j.mrrev.2016.08.004
38. Ryan JL. Ionizing radiation: the good, the bad, and the ugly. *J Invest Dermatol.* 2012;132(3 Pt 2):985-993. doi:10.1038/jid.2011.411
39. Pandya JA, Srikant N, Boaz K, Manaktala N, Kapila SN, Yinti SR. Post-radiation changes in oral tissues - An analysis of cancer irradiation cases. *South Asian J Cancer.* 2014;3(3):159-162. doi:10.4103/2278-330X.136785
40. Kryczka J, Boncela J. Leukocytes: The Double-Edged Sword in Fibrosis. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:652035. doi:10.1155/2015/652035
41. Yu Z, Xu C, Song B, Zhang S, Chen C, Li C, Zhang S. Tissue fibrosis induced by radiotherapy: current understanding of the molecular mechanisms, diagnosis and therapeutic advances. *J Transl Med.* 2023;21(1):708. doi: 10.1186/s12967-023-04554-0
42. Liu L, Sun Q, Davis F, Mao J, Zhao H, Ma D. Epithelial-mesenchymal transition in organ fibrosis development: current understanding and treatment strategies. *Burns Trauma.* 2022;10:tkac011. doi: 10.1093/burnst/tkac011
43. Gomes RN, Manuel F, Nascimento DS. Author Correction: The bright side of fibroblasts: molecular signature and regenerative cues in major organs. *NPJ Regen Med.* 2023;8(1):42. doi: 10.1038/s41536-023-00319-x
44. Borthwick LA, Wynn TA, Fisher AJ. Cytokine mediated tissue fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1832(7):1049-1060. doi:10.1016/j.bbadis.2012.09.014
45. Soejima S, Wu CH, Matsuse H, Terakado M, Okano S, Inoue T, Kumai Y. Swallowing-related muscle inflammation and fibrosis induced by a single dose of radiation exposure in mice. *Lab Anim Res.* 2024;40(1):12. doi: 10.1186/s42826-024-00199-2
46. Yano H, Hamanaka R, Nakamura-Ota M, Zhang JJ, Matsuo N, Yoshioka H. Regulation of type I collagen expression by microRNA-29 following ionizing radiation. *Radiat Environ Biophys.* 2018;57(1):41-54. doi:10.1007/s00411-017-0723-4

47. Lu J, Zhong Y, Lin Z, Lin X, Chen Z, Wu X, et al. Baicalin alleviates radiation-induced epithelial-mesenchymal transition of primary type II alveolar epithelial cells via TGF- β and ERK/GSK3 β signaling pathways. *Biomed Pharmacother.* 2017;95:1219-1224. doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.037
48. McKay TB, Emmitte KA, German C, Karamichos D. Quercetin and Related Analogs as Therapeutics to Promote Tissue Repair. *Bioengineering (Basel).* 2023;10(10):1127. doi: 10.3390/bioengineering10101127
49. Gajos-Michniewicz A, Czyz M. WNT/ β -catenin signaling in hepatocellular carcinoma: The aberrant activation, pathogenic roles, and therapeutic opportunities. *Genes Dis.* 2023;11(2):727-746. doi: 10.1016/j.gendis.2023.02.050
50. Xiao Y, Mo W, Jia H, Yu D, Qiu Y, Jiao Y, et al. Ionizing radiation induces cutaneous lipid remodeling and skin adipocytes confer protection against radiation-induced skin injury. *J Dermatol Sci.* 2020;97(2):152-160. doi: 10.1016/j.jdermsci.2020.01.009
51. Spitz DR, Azzam EI, Li JJ, Gius D. Metabolic oxidation/reduction reactions and cellular responses to ionizing radiation: a unifying concept in stress response biology. *Cancer Metastasis Rev.* 2004;23(3-4):311-22. doi: 10.1023/B:CANC.0000031769.14728.bc
52. Kodiyan J, Amber KT. Topical antioxidants in radiodermatitis: a clinical review. *Int J Palliat Nurs.* 2015;21(9):446-52. doi: 10.12968/ijpn.2015.21.9.446
53. Man MQ, Wakefield JS, Mauro TM, Elias PM. Role of nitric oxide in regulating epidermal permeability barrier function. *Exp Dermatol.* 2022;31(3):290-298. doi: 10.1111/exd.14470
54. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* 2001;357(Pt 3):593-615. doi: 10.1042/0264-6021:3570593
55. Berbée M, Fu Q, Kumar KS, Hauer-Jensen M. Novel strategies to ameliorate radiation injury: a possible role for tetrahydrobiopterin. *Curr Drug Targets.* 2010;11(11):1366-74. doi: 10.2174/1389450111009011366

56. Pathak R, Pawar SA, Fu Q, Gupta PK, Berbée M, Garg S, et al. Characterization of transgenic Gfrp knock-in mice: implications for tetrahydrobiopterin in modulation of normal tissue radiation responses. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(9):1436-46. doi: 10.1089/ars.2012.5025
57. Xue J, Yu C, Sheng W, Zhu W, Luo J, Zhang Q, et al. The Nrf2/GCH1/BH4 Axis Ameliorates Radiation-Induced Skin Injury by Modulating the ROS Cascade. *J Invest Dermatol*. 2017;137(10):2059-2068. doi: 10.1016/j.jid.2017.05.019
58. Feng Y, Feng Y, Gu L, Liu P, Cao J, Zhang S. The Critical Role of Tetrahydrobiopterin (BH4) Metabolism in Modulating Radiosensitivity: BH4/NOS Axis as an Angel or a Devil. *Front Oncol*. 2021;11:720632. doi: 10.3389/fonc.2021.720632
59. Jiao Y, Cao F, Liu H. Radiation-induced Cell Death and Its Mechanisms. *Health Phys*. 2022;123(5):376-386. doi: 10.1097/HP.0000000000001601
60. McBride WH, Schae D. Radiation-induced tissue damage and response. *J Pathol*. 2020;250(5):647-655. doi: 10.1002/path.5389
61. Di Maggio FM, Minafra L, Forte GI, Cammarata FP, Lio D, Messa C, Gilardi MC, Bravatà V. Portrait of inflammatory response to ionizing radiation treatment. *J Inflamm (Lond)*. 2015;12:14. doi: 10.1186/s12950-015-0058-3
62. Schae D, Kachikwu EL, McBride WH. Cytokines in radiobiological responses: a review. *Radiat Res*. 2012;178(6):505-23. doi: 10.1667/RR3031
63. Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor inhibitors in the treatment of renal cell carcinomas. *Pharmacol Res*. 2017;120:116-132. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.010
64. Mitryayeva NA, Grebinyk LV, Uzlenkova NE. INFLUENCE OF COMBINED ACTION OF X-RADIATION AND CYCLOOXYGENASE-2 - MELOXIVET INHIBITOR ON VEGF AND PGE-2 CONTENT IN BLOOD OF RAT-TUMOR CARRIERS. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2019;24:261-269. English, Ukrainian. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-261-269

65. Soler R, Vianello A, Füllhase C, Wang Z, Atala A, Soker S, Yoo JJ, Kouidywilliam J. Vascular therapy for radiation cystitis. *Neurourol Urodyn*. 2011;30(3):428-34. doi: 10.1002/nau.21002
66. Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995;31(5):1341-1346. doi:10.1016/0360-3016(95)00060-C
67. Dormand EL, Banwell PE, Goodacre TE. Radiotherapy and wound healing. *Int Wound J*. 2005;2(2):112-27. doi: 10.1111/j.1742-4801.2005.00079.x
68. Karalashvili L, Mardaleishvili K, Uhryn M, Chakhunashvili D, Kakabadze Z. CURRENT CONDITION AND CHALLENGES IN TREATMENT OF NON-HEALING WOUND AFTER RADIATION THERAPY (REVIEW). *Georgian Med News*. 2018;(280-281):23-28.
69. Chu CN, Hu KC, Wu RS, Bau DT. Radiation-irritated skin and hyperpigmentation may impact the quality of life of breast cancer patients after whole breast radiotherapy. *BMC Cancer*. 2021;21(1):330. doi: 10.1186/s12885-021-08047-5
70. Kim JH, Jenrow KA, Brown SL. Mechanisms of radiation-induced normal tissue toxicity and implications for future clinical trials. *Radiat Oncol J*. 2014;32(3):103-15. doi: 10.3857/roj.2014.32.3.103
71. Fujioka M. Surgical Reconstruction of Radiation Injuries. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014;3(1):25-37. doi: 10.1089/wound.2012.0405
72. Касрашвілі ГГ, Ксьонз ІВ, Колеснік ГІ. та ін. Комплексне лікування трофічних виразок нижніх кінцівок зі змішаною етіологією. В: Сучасні аспекти модернізації науки в Україні: стан, проблеми, тенденції розвитку. Матер. IV Міжнар. наук.-практ. конф., 07 грудня 2020 р. Мадрид : ФОП Кандиба Т. П., 2020., с. 137-141.
73. Пилипенко МІ. Місцеві променеві пошкодження. *Укр. радіол. журн*. 2014; 2: 34-45.

74. Kam WW, Banati RB. Effects of ionizing radiation on mitochondria. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:607-619. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.024
75. Cavatorta C, Meroni S, Montin E, Oprandi MC, Pecori E, Lecchi M, et al. Retrospective study of late radiation-induced damages after focal radiotherapy for childhood brain tumors. *PLoS One.* 2021;16(2):e0247748. doi: 10.1371/journal.pone.0247748
76. Іванкова ВС, Столярова ОЮ, Хруленко ТВ, Барановська ЛМ. Лікування і профілактика променевих ускладнень при радіотерапії раку шийки матки. *Клінічна онкологія.* 2022; 3-4: 1-5. doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.47-3.29217
77. Візір ВА, Деміденко ОВ, Школовий ВВ. Радіаційні ураження. Навчально-методичний посібник. Запоріжжя: ЗДМУ; 2019. 63 с.
78. Soriano JL, Calpena AC, Souto EB, Clares B. Therapy for prevention and treatment of skin ionizing radiation damage: a review. *Int J Radiat Biol.*;95(5):537-553. doi: 10.1080/09553002.2019.1562254
79. Simonova-Pushkar LI, Gertman VZ, Bilogurova LV. Application of photomagnetic therapy for treatment of skin radiation damage in rats. *Problems of Radiation Medicine.* 2014;19:458–70.
80. Chen W, Wang Y, Zheng J, Chen Y, Zhang C, Yang W, et al. Characterization of cellular senescence in radiation ulcers and therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived conditioned medium. *Burns Trauma.* 2023;11:tkad001. DOI: <https://doi.org/10.1093/burnst/tkad001>
81. Bray FN, Simmons BJ, Wolfson AH, Nouri K. Acute and Chronic Cutaneous Reactions to Ionizing Radiation Therapy. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2016;6(2):185-206. doi: 10.1007/s13555-016-0120-y
82. Domina EA, Philchenkov A, Dubrovskaya A. Individual Response to Ionizing Radiation and Personalized Radiotherapy. *Crit Rev Oncog.* 2018;23(1-2):69-92. doi: 10.1615/CritRevOncog.2018026308

83. Straub JM, New J, Hamilton CD, Lominska C, Shnyder Y, Thomas SM. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015;141(11):1985-94. doi: 10.1007/s00432-015-1974-6
84. Silvestri M, Cristaudo A, Morrone A, Messina C, Bennardo L, Nisticò SP, Mariano M, Cameli N. Emerging Skin Toxicities in Patients with Breast Cancer Treated with New Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors: A Systematic Review. *Drug Saf*. 2021;44(7):725-732. doi: 10.1007/s40264-021-01071-1
85. Bennardo L, Passante M, Cameli N, et al. Skin Manifestations after Ionizing Radiation Exposure: A Systematic Review. *Bioengineering (Basel)*. 2021;8(11):153. doi:10.3390/bioengineering8110153
86. Camidge R, Price A. Characterizing the phenomenon of radiation recall dermatitis. *Radiother Oncol*. 2001;59(3):237-45. doi: 10.1016/s0167-8140(01)00328-0
87. Burris HA 3rd, Hurting J. Radiation recall with anticancer agents. *Oncologist*. 2010;15(11):1227-37. doi: 10.1634/theoncologist.2009-0090
88. Zorzan MT, de Mello Pereira R, Lima LF, de Arruda Mattos TV, Sá R. Radiodermatitis as a consequence of radiation recall induced by acyclovir: case report. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2021;26(3):475-480. doi: 10.5603/RPOR.a2021.0058
89. Mercuri SR, Brianti P, Dattola A, Bennardo L, Silvestri M, Schipani G, Nisticò SP. CO₂ laser and photodynamic therapy: Study of efficacy in periocular BCC. *Dermatol Ther*. 2018;31(4):e12616. doi: 10.1111/dth.12616
90. McDaniel B, Badri T, Steele RB. Basal Cell Carcinoma. 2024. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
91. Zargari O. Radiation-induced basal cell carcinoma. *Dermatol Pract Concept*. 2015;5(2):109-12. doi: 10.5826/dpc.0502a22
92. Misago N, Ogusu Y, Narisawa Y. Keloidal basal cell carcinoma after radiation therapy. *Eur J Dermatol*. 2004;14(3):182-5.
93. Cuperus E, Leguit R, Albrechts M, Toonstra J. Post radiation skin tumors: basal cell carcinomas, squamous cell carcinomas and angiosarcomas. A review of this

- late effect of radiotherapy. *Eur J Dermatol.* 2013;23(6):749-57. doi: 10.1684/ejd.2013.2106
94. Wilson BN, Shah R, Menzer C, Aleisa A, Sun MD, Kwong B.Y, et al. Consensus on the clinical management of chronic radiation dermatitis and radiation fibrosis: a Delphi survey. *Br J Dermatol.* 2022;187(6):1054-1056. doi: 10.1111/bjd.21852
95. Edwards MJ, Hirsch RM, Broadwater JR, Netscher DT, Ames FC. Squamous cell carcinoma arising in previously burned or irradiated skin. *Arch Surg.* 1989;124(1):115-7. doi: 10.1001/archsurg.1989.01410010125024
96. Fodor J, Orosz Z, Szabó E, Sulyok Z, Polgár C, Zaka Z, Major T. Angiosarcoma after conservation treatment for breast carcinoma: our experience and a review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(3):499-504. doi: 10.1016/j.jaad.2005.10.017
97. Conti M, Morciano F, Rossati C, Gori E, Belli P, Fornasa F, Romanucci G, Rella R. Angiosarcoma of the Breast: Overview of Current Data and Multimodal Imaging Findings. *J Imaging.* 2023;9(5):94. doi: 10.3390/jimaging9050094
98. Amajoud Z, Vertongen AS, Weytens R, Hauspy J. Radiation induced angiosarcoma of the breast: case series and review of the literature. *Facts Views Vis Obgyn.* 2018;10(4):215-220.
99. Poonacha KNT, Villa TG, Notario V. The Interplay among Radiation Therapy, Antibiotics and the Microbiota: Impact on Cancer Treatment Outcomes. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(3):331. doi: 10.3390/antibiotics11030331
100. Lin Y. Internal radiation therapy: a neglected aspect of nuclear medicine in the molecular era. *J Biomed Res.* 2015;29(5):345-55. doi: 10.7555/JBR.29.20140069
101. McBride WH, Schae D. Radiation-induced tissue damage and response. *J Pathol.* 2020;250(5):647-655. doi: 10.1002/path.5389
102. Poirier Y, Becker S, Decesaris C, Culberson W, Draeger E, Gerry AJ, et al. The Impact of Radiation Energy on Dose Homogeneity and Organ Dose in the

- Göttingen Minipig Total-Body Irradiation Model. *Radiat Res.* 2020;194(5):544-556. doi: 10.1667/RADE-20-00135.1
103. Хворостов ЄД, Морозов СО, Герасимов ГМ, Дериколенко ВВ, Солодовидченко СС. Вплив фотодинамічної терапії на мікрофлору при лікуванні гнійно-некротичних процесів м'яких тканин (клініко-експериментальна робота). *Харківська хірургічна школа.* 2020;2:26–29. DOI: <https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2020.05>
104. Haubner F, Ohmann E, Pohl F, Strutz J, Gassner HG. Wound healing after radiation therapy: review of the literature. *Radiat Oncol.* 2012;7:162. doi: 10.1186/1748-717X-7-162
105. Iacovelli NA, Torrente Y, Ciuffreda A, Guardamagna VA, Gentili M, Giacomelli L, Sacerdote P. Topical treatment of radiation-induced dermatitis: current issues and potential solutions. *Drugs Context.* 2020;9:2020-4-7. doi: 10.7573/dic.2020-4-7.
106. Devirgiliis V, Panasiti V, Fioriti D, Anzivino E, Bellizzi A, Cimillo M, et al. Antibacterial activity of methyl aminolevulinate photodynamic therapy in the treatment of a cutaneous ulcer. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011;24(3):793-5. doi: 10.1177/039463201102400326
107. Назарян РС, Спірідонова КЮ, Піонтковська ОВ, Власов АВ. Фотодинамічна терапія: від давнини до сьогодення. Огляд літератури. *Новини стоматології.* 2015;3(84):66-70.
108. Camões-Barbosa A, Simões H, Mendes M. Low-level laser therapy in the treatment of diabetic ulcers: an evidence problem. *Acta médica portuguesa.* 2011;24(4):875-880.
109. Gobbo M, Rico V, Marta GN, Caini S, Ryan Wolf J, van den Hurk C, et al. Photobiomodulation therapy for the prevention of acute radiation dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Supportive care in cancer.* 2023;31(4):227. doi: 10.1007/s00520-023-07673-y
110. Correia JH, Rodrigues JA, Pimenta S, Dong T, Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future

- Directions. Pharmaceutics. 2021;13(9):1332. doi:
10.3390/pharmaceutics13091332
111. Wang X, Luo D, Basilion JP. Photodynamic Therapy: Targeting Cancer Biomarkers for the Treatment of Cancers. *Cancers (Basel)*. 2021;13(12):2992. doi: 10.3390/cancers13122992
112. Garritsen FM, Brouwer MW, Limpens J, Spuls PI. Photo(chemo)therapy in the management of atopic dermatitis: an updated systematic review with implications for practice and research. *Br J Dermatol*. 2014;170(3):501-13. doi: 10.1111/bjd.12645
113. Dejonckheere CS, Schmeel LC, Stope MB. Concise review of non-invasive physical plasma as a promising treatment option for radiation injuries of the skin. *Wound Repair Regen*. 2023;31(3):415-417. doi: 10.1111/wrr.13077
114. Camargo CP, Forner-Cordero A, Silva BM, de Souza VM, Cunha HS, de Oliveira Feitosa Y, et al. Effect of Photobiomodulation With Different Wavelengths on Radiodermatitis Treatment. *Plastic and reconstructive surgery. Global open*. 2023;11(2):e4809 p. doi:10.1097/GOX.0000000000004809
115. Іванова ЮВ, Граматюк С Н, Криворучко ІА, Мушенко ЕВ, Салех АШ. Модифікована фотодинамічна терапія гнійних ран (експериментальне дослідження). *Фотобіологія та фотомедицина*. 2020;28:16-23. doi: 10.26565/2076-0612-2019-28-02
116. Guilhem G, Hug F, Couturier A. Effects of air-pulsed cryotherapy on neuromuscular recovery subsequent to exercise-induced muscle damage. *The American journal of sports medicine*. 2013;41(8):1942-1951. doi: 10.1177/0363546513490648
117. Grinholc M, Zawacka-Pankau J, Gwizdek-Wiśniewska A, Bielawski KP. Evaluation of the role of the pharmacological inhibition of *Staphylococcus aureus* multidrug resistance pumps and the variable levels of the uptake of the sensitizer in the strain-dependent response of *Staphylococcus aureus* to PPA_{Arg2}-based photodynamic inactivation. *Photochemistry and Photobiology*. 2010;86(5):1118-1126.

118. Grinholc M, Szramka B, Kurlenda J, Graczyk A, Bielawski KP. Bactericidal effect of photodynamic inactivation against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain-dependent. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 2008;90(1): 57-63.
119. Nelson EA, Adderley U. Venous leg ulcers. *BMJ Clin Evid*. 2016;2016:1902.
120. Chandrasekaran B, Chettri R, Agrawal N, Sathyamoorthy C. Short-term multimodal phototherapy approach in a diabetic ulcer patient. *Singapore Med J*. 2012;53(6):e122-4
121. Voide C, Trampuz A, Orasch C. Pied Diabetique Infecte [The infected diabetic foot]. *Praxis (Bern 1994)*. 2012;101(22):1431-5. doi: 10.1024/1661-8157/a001100
122. Khorsandi K, Fekrazad R. Skin wound healing in diabetic rat model using low-dose photodynamic therapy. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/bab.2568>
123. Jori G, Fabris C, Soncin M, Ferro S, Coppellotti O, Dei D, Fantetti L, Chiti G, Roncucci G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med*. 2006;38(5):468-81. doi: 10.1002/lsm.20361
124. Grandi V, Corsi A, Pimpinelli N, Bacci S. Cellular Mechanisms in Acute and Chronic Wounds after PDT Therapy: An Update. *Biomedicines*. 2022;10(7):1624. doi: 10.3390/biomedicines10071624
125. Zuhayri H, Samarinova AA, Borisov AV, Guardado DAL, Baalbaki H, Krivova NA, Kistenev YV. Quantitative Assessment of Low-Dose Photodynamic Therapy Effects on Diabetic Wound Healing Using Raman Spectroscopy. *Pharmaceutics*. 2023;15(2):595. doi: 10.3390/pharmaceutics15020595
126. Qiu L, Wang C, Lan M, Guo Q, Du X, Zhou S, Cui P, Hong T, Jiang P, Wang J, Xia J. Antibacterial Photodynamic Gold Nanoparticles for Skin Infection. *ACS Appl Bio Mater*. 2021;4(4):3124-3132. doi: 10.1021/acsabm.0c01505
127. Simonetti O, Rizzetto G, Radi G, Molinelli E, Cirioni O, Giacometti A,

- Offidani A. New Perspectives on Old and New Therapies of Staphylococcal Skin Infections: The Role of Biofilm Targeting in Wound Healing. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(11):1377. doi: 10.3390/antibiotics10111377
128. Perni S, Preedy EC, Prokopovich P. Amplify antimicrobial photo dynamic therapy efficacy with poly-beta-amino esters (PBAEs). *Sci Rep*. 2021;11(1):7275. doi: 10.1038/s41598-021-86773-
129. Сімонова-Пушкар ЛІ, Гертман ВЗ, Білогурова ЛВ. Історія становлення та перспективи застосування на сучасному етапі фотодинамічної терапії у різних галузях медицини. *Експериментальна та клінічна медицина*. 2014;4(65):85-96.
130. Бойко АГ, Бойко П, Завадська ТС. Фотодинамічна терапія в онкології. *Онкологія*. 2021;23(1-2):53-56. doi: 10.32471/oncology.2663-7928.t-23-1-2021-1-2g.9411
131. Juarranz Á, Gilaberte Y, González S. Photodynamic Therapy (PDT) in Oncology. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3341. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12113341>
132. Jori G, Brown SB. Photosensitized inactivation of microorganisms. *Photochem Photobiol Sci*. 2004;3(5):403-5. doi: 10.1039/b311904c
133. Wilson M. Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. *Photochemical & photobiological sciences*. 2004;3:412-418.
134. Brown S. Clinical antimicrobial photodynamic therapy: phase II studies in chronic wounds. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2012;10:80-83.
135. WHO. New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis. Joint News Release. 2019. 29 p.
136. Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, Horng H. Global Contributors to Antibiotic Resistance [published correction appears in *J Glob Infect Dis*. 2019;11(3):131]. *J Glob Infect Dis*. 2019;11(1):36-42. doi:10.4103/jgid.jgid_110_18
137. Süle A. Antimicrobial resistance-a global challenge that deserves more

- attention!. *Eur J Hosp Pharm.* 2022;29(2):65. doi: 10.1136/ejhpharm-2021-003207
138. Gunaydin G, Gedik ME, Ayan S. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer-A Review of the Current Clinical Status. *Front Chem.* 2021;9:686303. doi: 10.3389/fchem.2021.686303
139. Santos dos AF, Almeida de DRQ, Terra LF. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. *J. Cancer Metast. Treat.* 2019;5:25. doi: 10.20517/2394-4722.2018.83
140. Felifel NT, Sliem MA, Kamel Z, et al. Antimicrobial Photodynamic Therapy against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Using Nanoemulsion-Encapsulated Zinc Phthalocyanine. *Microorganisms.* 2023;11(5):1143. doi:10.3390/microorganisms11051143
141. Liu Y, Qin R, Zaat SAJ, Breukink E, Heger M. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *J Clin Transl Res.* 2015;1(3):140-167.
142. Ghorbani J, Rahban D, Aghamiri S, Teymouri A, Bahador A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview. *Laser Ther.* 2018;27(4):293-302. doi:10.5978/islsm.27_18-RA-01
143. Magadla A, Oluwole DO, Managa M. et al. Physicochemical and antimicrobial photodynamic chemotherapy (against *E. coli*) by indium phthalocyanines in the presence of silver–iron bimetallic nanoparticles. *Polyhedron.* 2019;162:30-38.
144. Garapati C, Boddu Sai HS, Jacob S, Ranch KM, Patel C, Babu RJ. Photodynamic therapy: A special emphasis on nanocarrier-mediated delivery of photosensitizers in antimicrobial therapy. *Arabian Journal of Chemistry.* 2023;16(4):104583. doi: 10.1016/j.arabjc.2023.104583
145. Morley S, Griffiths J, Philips G, Moseley H, O'Grady C, Mellish K, et al. Phase IIa randomized, placebo-controlled study of antimicrobial photodynamic therapy in bacterially colonized, chronic leg ulcers and diabetic foot ulcers: a new approach to antimicrobial therapy. *Br J Dermatol.* 2013;168(3):617-24. doi:

10.1111/bjd.12098

146. Терещенко СВ, Денисов МО. Фотосенсибілізатори для фотодинамічної терапії: аналітичний огляд. Вісник НТУУ «КПІ». Серія Приладобудування. 2005;29:103-110.
147. Talbot CJ, Veldwijk MR, Azria D, Batini C, Bierbaum M, Brengues M, et al. Multi-centre technical evaluation of the radiation-induced lymphocyte apoptosis assay as a predictive test for radiotherapy toxicity. *Clin Transl Radiat Oncol.* 2019;18:1-8. doi: 10.1016/j.ctro.2019.06.001
148. Красносельський МВ, Гоні С-АТ, Іванова ЮВ, патентовласники. Спосіб оцінки життєздатності покривних тканин місцевих променеви́х ушкоджень. № u201606096. Опубл. 12.12. 2016.
149. Maria OM, Eliopoulos N, Muanza T. Radiation-Induced Oral Mucositis. *Front Oncol.* 2017;7:89. doi: 10.3389/fonc.2017.00089
150. Liu S, Zhao Q, Zheng Z, Liu Z, Meng L, Dong L, Jiang X. Status of Treatment and Prophylaxis for Radiation-Induced Oral Mucositis in Patients With Head and Neck Cancer. *Front Oncol.* 2021;11:642575. doi: 10.3389/fonc.2021.642575
151. Pulito C, Cristaudo A, Porta C, Zapperi S, Blandino G, Morrone A, Strano S. Oral mucositis: the hidden side of cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020;39(1):210. doi: 10.1186/s13046-020-01715-7
152. Jin Y, Wang C, Xia Z, Niu P, Li Y, Miao W. Photodynamic chitosan sponges with dual instant and enduring bactericidal potency for treating skin abscesses. *Carbohydrate polymers.* 2023;306:120589. doi:10.1016/j.carbpol.2023.120589
153. Orringer JS, Sachs DL, Bailey E, Kang S, Hamilton T, Voorhees JJ. Photodynamic therapy for acne vulgaris: a randomized, controlled, split-face clinical trial of topical aminolevulinic acid and pulsed dye laser therapy. *J Cosmet Dermatol.* 2010;9(1):28-34. doi: 10.1111/j.1473-2165.2010.00483.x
154. Ping Y, Jian Bo Z, Xing Yun Z, Ali K, Jun C, Xu Lou I, Wu LM. Case report: Acne vulgaris treatment with 5-Aminolaevulinic acid photodynamic therapy and adalimumab: a novel approach. *Front Med (Lausanne).* 2023;10:1187186. doi:

- 10.3389/fmed.2023.1187186
155. Bissonnette R, Tremblay JF, Juzenas P, Boushira M, Lui H. Systemic photodynamic therapy with aminolevulinic acid induces apoptosis in lesional T lymphocytes of psoriatic plaques. *J Invest Dermatol*. 2002;119(1):77-83. doi: 10.1046/j.1523-1747.2002.01827.x
156. Fransson J, Ros AM. Clinical and immunohistochemical evaluation of psoriatic plaques treated with topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21(6):326-32. doi: 10.1111/j.1600-0781.2005.00182.x
157. Caillot E, Denis F. Mucites radio-induites buccopharyngées: actualités sur la prise en charge [Radio-induced oral and pharyngeal mucositis: management updates]. *Cancer Radiother*. 2012;16(5-6):358-63. doi: 10.1016/j.canrad.2012.05.005
158. Campbell SM, Tyrrell J, Marshall R, Curnow A. Effect of MAL-photodynamic therapy on hypertrophic scarring. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2010;7(3):183-8. doi: 10.1016/j.pdpdt.2010.07.003
159. Brusolino N, Lotti T, Rossi R. Photodynamic therapy for a hypertrophic scarring: a promising choice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2011;27(6):334-5. doi: 10.1111/j.1600-0781.2011.00619.x
160. Kulshrestha S, Chawla R, Singh S, Yadav P, Sharma N, Goel R, et al. Protection of sildenafil citrate hydrogel against radiation-induced skin wounds. *Burns*. 2020;46(5):1157-1169. doi: 10.1016/j.burns.2019.11.020
161. Behroozian T, Caini S, van den Hurk C, Bonomo P, Chow E, Wolf JR. Systematic review and meta-analysis on interventions for radiation dermatitis prevention and management: an overview of the methods. *Support Care Cancer*. 2023;31(5):261. doi: 10.1007/s00520-023-07707-5
162. Behroozian T, Bonomo P, Patel P, Kanee L, Finkelstein S, van den Hurk C, et al. Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC) clinical practice guidelines for the prevention and management of acute radiation dermatitis: international Delphi consensus-based recommendations. *Lancet*

- Oncol. 2023;24(4):e172-e185. doi: 10.1016/S1470-2045(23)00067-0
163. E Vasconcelos SCCM, Guerra ENS, de Menêses AG, Dos Reis PED, Ferreira EB. Effects of oral supplementation to manage radiation dermatitis in cancer patients: a systematic review. *Support Care Cancer*. 2023;31(4):240. doi: 10.1007/s00520-023-07685-8
164. Ostadi A, Arab-Zozani M, Zarei E, Ferns GA, Bahrami A. Therapeutic effect of turmeric on radiodermatitis: A systematic review. *Physiol Rep*. 2023;11(5):e15624. doi: 10.14814/phy2.15624
165. Dastgheyb SS, Kim K, Doucette A, Freedman G, Shah P, Makhlin I, Clark A, Taunk N. Acute skin radiation toxicity seen with concurrent T-DM1: A single institutional report of 35 patients. *Breast*. 2023;67:26-29. doi: 10.1016/j.breast.2022.12.002
166. Fang KC, Lee CH, Chuang HC, Huang TL, Chien CY, Tsai WL, Fang FM. Acute radiation dermatitis among patients with nasopharyngeal carcinoma treated with proton beam therapy: Prognostic factors and treatment outcomes. *Int Wound J*. 2023;20(2):499-507. doi: 10.1111/iwj.13897
167. Widjaja SS, Sumantri IB, Rusdiana R, Yo H, Jamnasi J, Yo R, et al. Potential Benefits of *Aloe vera* and *Raphanus sativus var. longipinnatus* Gel for Prevention of Radiation-Induced Dermatitis in Head and Neck Cancer Patients. *Iran J Pharm Res*. 2023;21(1):e132213. doi: 10.5812/ijpr-132213
168. Luu Y, Han J, Owji S, Kamat S, Luu C, Ungar J, Gulati N. Accelerated Healing from Severe Radiation Dermatitis Using Noncontact, Low-frequency Ultrasound-assisted Saline Wash Therapy. *Adv Skin Wound Care*. 2023;36(1):41-43. doi: 10.1097/01.ASW.0000897440.98255.e5
169. Cios A, Cieplak M, Szymański Ł, Lewicka A, Cierniak S, Stankiewicz W, Mendrycka M, Lewicki S. Effect of Different Wavelengths of Laser Irradiation on the Skin Cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2437. doi: 10.3390/ijms22052437
170. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM. *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects: With Expert Consult* access. 3rd Edition. Churchill Livingstone; 2017, p. 604-634

171. Rutkowski JM, Markhus CE, Gyenge CC, Alitalo K, Wiig H, Swartz MA. Dermal collagen and lipid deposition correlate with tissue swelling and hydraulic conductivity in murine primary lymphedema. *Am J Pathol.* 2010;176(3):1122-9. doi: 10.2353/ajpath.2010.090733
172. Palmerini CA, Fini C, Floridi A, Morelli H, Vedovelli A. High-performance liquid chromatographic analysis of free hydroxyproline and proline in blood plasma and of free and peptide-bound hydroxyproline in urine. *J Chromatogr.* 1985;339(2):285-92. doi: 10.1016/s0378-4347(00)84655-1
173. Лаповець ЛЄ, редактор. Клінічна лабораторна діагностика. 2-е видання. Київ: Медицина; 2021. 472 с.
174. Леонтєва ФС, Філіпченко ВА, Тимошенко ОП, Карташов МІ, патентовласники. України. Спосіб визначення фракцій сульфатованих гексозаміногліканів. Опубл. 26.11.2007.
175. Морозенко ДВ, Левченко ВІ, Тимошенко ОП. Біохімічні показники стану сполучної тканини у діагностиці хвороб. Біла Церква; 2011. 42 с.
176. Рижов ОА, Пенкін ЮМ. Статистичні методи опрацювання результатів медично-біологічних досліджень. Львів: Магнолія 2006; 2022. 160 с.
177. Атраментова ЛО, Утєвська ОМ. Біометрія: підручник. Ч. 2. Порівняння груп і аналіз зв'язку. Харків: Ранок; 2007. 176 с.
178. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg.* 2014;7(4):189-197. doi: 10.4103/0974-2077.150734.
179. Покидько МІ, Зарезенко ТП, Філіппов СВ, Балабуєва ВВ, Осадчий АВ. Порівняльний аналіз методів оцінки розмірів ранового дефекту при гнійно-запальних захворюваннях м'яких тканин. *Клінічна хірургія.* 2019;86(11.2):47-49.
180. Люта ВА, Кононов ОВ. Практикум з мікробіології. Київ: Медицина; 2008. 184 с.

181. Волянський ЮЛ, Мироненко ЛГ, Калініченко СВ. Стандартизація приготування мікробних суспензій. Інформаційний лист № 163-2006. Київ: Укрмедпатентінформ; 2006. 10 с.
182. Franco-Duarte R, Černáková L, Kadam S, Kaushik KS, Salehi B, Bevilacqua A, et al. Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms-From Past to Present. *Microorganisms*. 2019 13;7(5):130. doi: 10.3390/microorganisms7050130
183. Воробель АВ, Грицуляк БВ, Глодан ОЯ, Халла ОЄ. Цитологічна і лабораторна техніка та діагностика. Івано-Франківськ; 2013. 164 с.
184. Goldberg S, Hoffman J. *Clinical Hematology. Professional & Technical*; 2021. 95 p.
185. Губіна-Вакулик ПІ, Сорокіна ІВ, Марковський ВД, Кихтенко ОВ, Купріянова ЛС, Сидоренко РВ; Харківський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах. № u200906730. Опубл. 25.12.09.
186. McAllister RM, Newcomer SC, Laughlin MH. Vascular nitric oxide: effects of exercise training in animals. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008;33(1):173-178. doi:10.1139/H07-146
187. Bloodsworth A, O'Donnell VB, Freeman BA. Nitric oxide regulation of free radical- and enzyme-mediated lipid and lipoprotein oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(7):1707-15. doi: 10.1161/01.atv.20.7.1707
188. Filep JG. Sepsis and vascular dysfunction: connections with endothelial connexin 40. *Crit Care Med*. 2005;33(6):1442-3. doi: 10.1097/01.ccm.0000155780.88614.07
189. Красносельський МВ, Сімонова ЛІ, Гертман ВЗ, Пушкарь ОС, Завадська ТС. Тканинні імунні клітини та їх роль у процесах загоєння інфікованих променевих виразок при впливі фотодинамічної терапії (експериментальне дослідження). *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2019;24:250-260. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-250-260

190. Krasnoselskyi MV, Pushkar ES, Simonova-Pushkar LI, Myroshnychenko MS. Nitric oxide metabolism features under conditions of experimental infected radiation – induced skin injuries development and their treatment with photodynamic therapy. *Wiadomosci lekarskie*. 2020;73(8):1655-1658. doi: 10.36740/WLek202008112
191. Pushkar OS, Myroshnychenko MS, Koliada OM. Features of apoptotic and proliferative processes in experimental infected radiation-induced skin ulcer under conditions of photodynamic therapy and the use of platelet-rich plasma. *Pol Merkur Lekarski*. 2024;52(1):54-59. doi: 10.36740/Merkur202401109
192. Красносельський МВ, Пушкар ОС, Сімонова ЛІ, Мирошніченко МС. Вплив фотодинамічної терапії збагаченої тромбоцитами плазми на процеси загоєння променевих виразок шкіри, інфікованих *Staphylococcus aureus*. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2020;25:338-352. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-338-352

ДОДАТКИ

Додаток 1

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ
ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСТЕРТАЦІЇ

1. **Pushkar OS**, Myroshnychenko MS, Koliada OM. Features of apoptotic and proliferative processes in experimental infected radiation-induced skin ulcer under conditions of photodynamic therapy and the use of platelet-rich plasma. *Pol Merkur Lekarski*. 2024;52(1):54-59. doi: 10.36740/Merkur202401109 [URL:https://polskimerkuriuszlekarSKI.pl/wp-content/uploads/library/PolMerkurLek2024i1.pdf](https://polskimerkuriuszlekarSKI.pl/wp-content/uploads/library/PolMerkurLek2024i1.pdf) (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: ідея дослідження, літературний пошук. Особистий внесок Мирошниченко М.С.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Коляда О.М.: узагальнення і підготовка до друку)
2. Krasnoselskyi MV, **Pushkar ES**, Simonova-Pushkar LI, Myroshnychenko MS. Nitric oxide metabolism features under conditions of experimental infected radiation – induced skin injuries development and their treatment with photodynamic therapy. *Wiadomosci lekarskie*. 2020;73(8):1655-1658. doi: 10.36740/WLek202008112 [URL:https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202008112.pdf](https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202008112.pdf) (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: літературний пошук, аналіз та опрацювання результатів .Особистий внесок Красносельський М.В.: ідея дослідження, розробка дизайну дослідження. Особистий внесок Сімонова-Пушкар Л.І.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Мирошниченко М.С.: узагальнення і підготовка до друку)
3. Красносельський МВ, **Пушкар ОС**, Сімонова ЛІ, Мирошниченко МС. Вплив фотодинамічної терапії збагаченої тромбоцитами плазми на процеси

загоєння променевих виразок шкіри, інфікованих *Staphylococcus aureus*. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020;25:338-352. doi:10.33145/2304-8336-2020-25-338-352

URL:https://www.radiationproblems.org.ua/25_2020/NCRM_2020_Paper_19.pdf (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: літературний пошук, аналіз та опрацювання результатів. Особистий внесок Красносельський М.В.: ідея дослідження, розробка дизайну дослідження. Особистий внесок Сімонова Л.І.: набір та опрацювання результатів дослідження. Особистий внесок Мірошниченко М.С.: узагальнення і підготовка до друку)

4. Красносельський МВ, Сімонова ЛІ, Гертман ВЗ, **Пушкар ОС**, Завадська ТС. Тканинні імунні клітини та їх роль у процесах загоєння інфікованих променевих виразок при впливі фотодинамічної терапії (експериментальне дослідження). Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2019;24:250-260. doi: 10.33145/2304-8336-2019-24-250-260
URL:https://www.radiationproblems.org.ua/24_2019/NRCRM_2019_Paper_16.pdf (Особистий внесок здобувача Пушкар О.С.: Огляд сучасних літературних джерел із зазначеної проблеми, підготовка статті до друку. Особистий внесок Красносельського М.В.: Ідея дослідження. Особистий внесок Сімонової Л.І.: Опрацювання та узагальнення матеріалу, підготовка статті до друку. Особистий внесок Гертман В.З.: Опрацювання та статистична обробка результатів дослідження. Особистий внесок Завадська Т.С.: Огляд сучасних літературних джерел із зазначеної проблеми)

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на:

1. Pushkar E, Krasnoselskiy N, Sklyar N, Simonova-Pushkar L, Sarkis-Ivanova V, Zavadzka T. Evaluation of the effectiveness of the treatment of infected radiation skin lesions using photodynamic therapy in the experiment. The Eight International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2020). Virtual Conference. 2020, p. 113.

2. Вивчення ефективності фотодинамічної терапії та збагаченого тромбоцитами фібрину у комплексному лікуванні інфікованих *Staphylococcus aureus* променевиx виразок шкіри в експерименті. В: Мікробіологічні читання пам'яті професора Юрія Леонідовича Волянського. Матеріали науково-практичної конференції. Харків; 2020, с.135-136.

3. Krasnoselskyi MV, Pushkar ES, Myroshnychenko MS, Simonova-Pushkar LI. Therapy Effect on the Healing Processes of *Staphylococcus Aureus* Radiation Ulcers of the Skin with Underlying Soft tissues. In: Photodynamic therapy and photodiagnosis update 2020. E-congress (November 5-6, 2020 Nancy, France, Munich, Germany).

4. Myroshnychenko MS, Krasnoselskyi MV, Pushkar ES, Simonova LI. Apoptosis and proliferation in uninfected and infected *Staphylococcus aureus* radiation skin ulcer. Belgian Week of Pathology. 2021, p. 72.

5. Сімонова-Пушкар ЛІ, Гертман ВЗ, Пушкар ОС. Вплив різних схем фотомодуляції на рівень ендогенної інтоксикації у хворих на рак молочної залози під час променевої терапії. Застосування лазерів у медицині та біології. Матеріали XLVIII міжн. наук.-практ. конф. Харків; 2018, с. 21-24.

Середні значення товщини шарів у променевій виразці шкіри в групах 2-4

Номер групи	Назва шару	Термін експерименту, доба				
		14	21	30	37	52
2 (чиста променева виразка)	Лейкоцито-некрот.	2260,9±23,3 100%	2037,5±18,2 100%	1792,4±15,7 100%	1535,9±24,3 100%	1354,9±25,0 100%
	Демарк. лейкоцит. вал	496,8±9,2 100%	433,8±4,8 100%	381,1±4,8 100%	279,8±4,6 100%	220,3±4,5 100%
	Шар гранул. тканини		38,1±2,0 100%	53,3±1,6 100%	86,1±2,8 100%	122,4±3,7 100%
	Шар сполуч. тканини				21,4±1,0 100%	62,1±3,0 100%
3 (інфік променева виразка)	Лейкоцито-некрот.	1824,4±15,9 80,7% *	1892,6±15,5 92,9% *	1764,9±12,5 98,5%	1683,9±27,3 109,6% *	1432,5±28,4 105,7% *
	Демарк. лейкоцит. вал	580,9±9,5 116,9% *	575,4±14,9 132,6% *	482,4±9,6 126,6% *	365,4±5,9 130,6% *	293,1±3,3 133,0% *
	Шар гранул. тканини			15,3±1,4 28,7% *	37,5±2,6 43,6% *	61,3±1,7 50,9% *
	Шар сполуч. тканини					
4 (інфік променева виразка + ФДТ)	Лейкоцито-некрот.	1724,4±22,7 76,3% **	1639,6±25,1 80,5% **	639,6±19,9 35,7% **		
	Демарк. лейкоцит. вал	538,3±5,8 108,4% **	477,4±3,9 110,1% **	250,9±3,9 65,8% **		
	Шар гранул. .канини	17,8±1,1	54,3±1,8 142,5%	120,1±4,6 225,3% **	494,1±11,7 573,9% **	
	Шар сполуч. тканини				131,9±8,1 616,4% **	668,8±10,9 1076,9% **

* - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 3 та 2** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 4 та 3

Абсолютна кількість p53- та Ki-67-позитивних клітин в епідермісі (групи 1-4)

Група	Абс.кількість (АК) клітин	Доба				
		14	21	30	37	52
1 інтакт	АК p53-позитивних клітин	2,1±0,3 100%				
	АК Ki-67-позитивних клітин	5,6±0,5 100%				
2 чиста виразка	АК p53-позитивних клітин	5,9±0,4 281% *	7,1±0,7 338,1% *	8,2±0,5 390,5% *	10,4±0,8 495,2% *	11,9±0,9 566,7% *
	АК Ki-67-позитивних клітин	3,2±0,5 57,1% *	5,1±0,8 91,1%	6,2±0,4 110,7%	7,1±0,7 126,8% *	8,2±0,5 146,4% *
3 виразка + інф	АК p53-позитивних клітин	7,2±0,3 342,9% **	10,4±0,5 495,2% **	12,8±0,6 609,5% **	15,3±0,4 728,6% **	16,4±0,7 781,0% **
	АК Ki-67-позитивних клітин	2,2±0,3 39,3% **	2,4±0,5 42,9% **	3,1±0,2 55,4% **	3,6±0,4 64,3% **	4,1±0,5 73,2% **
4 чиста виразка+інф+ФДТ	АК p53-позитивних клітин	3,2±0,1 152,4% ***	4,5±0,4 214,3% ***	5,6±0,7 266,7% ***	6,2±0,8 295,2% ***	7,1±0,5 338,1% ***
	АК Ki-67-позитивних клітин	7,3±0,2 130,4% ***	9,1±0,3 162,5% ***	10,4±0,5 185,7% ***	12,8±0,6 228,6% ***	15,5±0,7 276,8% ***

* - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 2 та 1

** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 3 та 2

*** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 4 та 3

Абсолютна кількість p53- та Ki-67-позитивних клітин в епідермісі (група 5)

Групи	Абс.кількіст ь (АК) клітин	Доба								
		10	13	16	19	22	25	28	31	45
5 група Виразка+інф+ФД Т +PRP	АК p53- ПОЗИТИВНИХ клітин	4,2±0,4 200,0%	5,1±0,6 242,9%	6,3±0,5 300,0%	7,0±0,8 333,3%	7,9±0,9 376,2%	5,9±0,5 281,0%	4,8±0,4 228,6%	4,0±0,3 190,5%	3,1±0,3 147,6%
	АК Ki-67- ПОЗИТИВНИХ клітин	11,7±1, 1 208,9%	13,9±0, 9 248,2%	15,8±1, 2 282,1%	17,1±0, 6 305,4%	19,6±0, 8 350,0%	17,5±0, 6 312,5%	16,4±0, 3 292,9%	14,2±0, 5 253,6%	12,5±0, 3 223,2%

Абсолютна кількість p53- і Ki-67-позитивних клітин в оточуючих ранову порожнину дерми, гіподерми та м'язової тканини (групи 1-4)

Група	Абсолютна кількість (АК) клітин	Доба				
		14	21	30	37	52
1 інтакт	АК p53-позитивних клітин	0,9±0,1 100,0%				
	АК Ki-67-позитивних клітин	3,1±0,4 100,0%				
2 чиста виразка	АК p53-позитивних клітин	6,7±0,5 744,4% *	8,2±0,6 911,1% *	9,1±0,4 1011,1% *	11,6±0,7 1288,8% *	12,8±1,1 1422,2% *
	АК Ki-67-позитивних клітин	4,6±0,4 305,4% *	5,9±0,7 305,4% *	7,0±0,5 305,4% *	8,4±0,3 305,4% *	9,6±0,7 305,4% *
3 виразка + інф	АК p53-позитивних клітин	9,8±0,5 1088,9% **	12,4±0,4 1377,8% **	14,6±0,5 1622,2% **	17,5±0,6 1944,4% **	18,1±0,7 2011,1% **
	АК Ki-67-позитивних клітин	3,4±0,2 305,4% **	3,8±0,3 305,4% **	4,3±0,4 305,4% **	4,8±0,5 305,4% **	5,3±0,7 305,4% **
4 чиста виразка+інф+ФДТ	АК p53-позитивних клітин	4,5±0,4 500,0% ***	5,6±0,7 622,2% ***	6,7±0,5 744,4% ***	7,4±0,7 822,2% ***	8,3±0,7 922,2% ***
	АК Ki-67-позитивних клітин	9,6±0,5 143,3% ***	10,2±0,9 152,2% ***	12,7±1,1 189,6% ***	14,3±0,9 213,4% ***	17,1±0,8 255,2% ***

* - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 2 та 1

** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 3 та 2

*** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 4 та 3

Абсолютна кількість p53- і Ki-67-позитивних клітин в оточуючих ранову порожнину дерми, гіподерми та м'язової тканини (група 5)

Група	Абс. кількість (АК) клітин	Доба								
		10	13	16	19	22	25	28	31	45
5 група Виразка+інф+ФДТ+Р РР	АК p53- ПОЗИТИВНИ Х КЛІТИН	5,3±0,4 588,9%	6,4±0,7 711,1%	7,2±0,8 800,0%	8,1±0,9 900,0%	8,8±0,9 977,8%	6,9±1,1 766,7%	5,8±0,7 644,4%	4,7±0,4 522,2%	3,2±0,3 355,6%
	АК Ki-67- ПОЗИТИВНИ Х КЛІТИН	13,1±0, 9 422,6%	15,4±0, 8 496,8%	17,9±0, 5 577,4%	19,8±0, 3 638,7%	21,5±0, 4 693,5%	19,1±0, 7 616,1%	18,0±0, 7 580,6%	16,1±0, 4 519,4%	14,2±0, 6 458,1%

Додаток 8

Абсолютна кількість p53- та Ki-67-позитивних клітин у грануляційній та сполучній тканинах, розташованих у рановій порожнині (групи 1-4)

Група	Абс. кількість (АК) клітин	Сутки				
		14	21	30	37	52
2 чиста виразка	АК p53-позитивних клітин		9,3±0,7	10,2±0,8	12,7±0,9	13,9±1,2
	АК Ki-67-позитивних клітин		6,9±0,8	8,1±0,6	9,5±0,4	10,7±0,9
3 виразка + інф	АК p53-позитивних клітин			15,7±0,6 *	18,6±0,7 *	19,3±0,8 *
	АК Ki-67-позитивних клітин			5,5±0,7 *	5,9±0,6 *	6,4±0,6*
4 чиста виразка+інф+ФДТ	АК p53-позитивних клітин	5,6±0,7	6,4±0,9 **	7,5±0,7 **	8,6±0,9 **	9,4±0,5 **
	АК Ki-67-позитивних клітин	10,7±0,5	11,4±0,8 **	13,9±1,2 **	15,4±0,8 **	18,2±0,6 **

* - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 3 та 2

** - відмінності значущі ($p < 0,05$) між групами 4 та 3

Абсолютна кількість p53- та Ki-67-позитивних клітин у грануляційній та сполучній тканинах, розташованих у рановій порожнині (група 5)

Група	Абс.кількість	Доба									
		10	13	16	19	22	25	28	31	45	
5	(АК) клітин										
а	АК p53-позитивних клітин	6,2 ±0, 5	7,6± 0,9	8,4± 0,5	9,2± 0,7	10,0 ±0,4	7,5± 0,9	6,7± 0,8	5,9± 0,5	4,3±0,4	
Виразка + інф + ФДТ + PRP	АК Ki-67-позитивних клітин	14, 3±1 ,2	16,6 ±0,7	18,8 ±0,4	20,9 ±0,5	22,6 ±0,7	20,1 ±0,5	19,2 ±0,5	17,3 ±0,6	15,2±0,7	

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 11:36:51 19.06.2024

Назва файлу з підписом: Pushkar_diss.pdf.asice
Розмір файлу з підписом: 9.0 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Pushkar_diss.pdf
Розмір файлу без підпису: 9.2 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ПУШКАР ОЛЕНА СЕРГІЇВНА
П.І.Б.: ПУШКАР ОЛЕНА СЕРГІЇВНА
Країна: Україна
РНОКПП: 3483513809
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 11:36:42
19.06.2024
Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"
Серійний номер: 5E984D526F82F38F0400000088A963011C352D05
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)
Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2024.04.15 13:00