

ВЛИЯНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ЭНДОГЕННЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОЖИ

Цель работы. Изучение влияния фотодинамического воздействия на состояние показателей эндогенной антибактериальной защиты (оксида азота и фермента миелопероксидазы) у животных с инфицированными лучевыми язвами.

Материалы и методы. Работа проведена на 90 крысах-самцах с локальным Икс-облучением участка кожи бедра в дозе 85,0 Гр. При появлении признаков лучевой язвы (7-е сутки) облученный участок инфицировали штаммом *Pseudomonas aeruginosa*. Через сутки на инфицированную лучевую язву животным опытной группы (30 крыс) проводили сеанс ФДТ на аппарате «Барва-LED/630» с фотосенсибилизатором метиленовым синим. В сыворотке крови определяли суммарное содержание стабильных метаболитов оксида азота (NO) и активность миелопероксидазы (МПО) в нейтрофилах цитохимическим методом.

Результаты. Установлено, что развитие «чистой» лучевой язвы сопровождалось повышением уровня метаболитов NO в сыворотке крови (на 30–40% от нормы). Инфицирование лучевой язвы увеличивало показатель NO на 80%. После сеанса ФДТ отмечалось стабильное снижение NO до нормальных значений. Параллельно, в нейтрофилах развивался дефицит МПО. При «чистой» лучевой язве активность фермента снижалась (на 20–35%) в течение 30 суток, однако к концу эксперимента (45 сутки) восстанавливалась. При инфицировании лучевой язвы наблюдалось прогрессирование снижения активности МПО в 1,5–2 раза, которая была значимо ниже, чем у только облученных крыс, и нормализация показателя отсутствовала за весь период наблюдений. У животных с инфицированной язвой и лечением с помощью ФДТ активность МПО восстанавливалась до нормальных значений практически сразу после элиминации.

Выводы. Применение ФДТ для антимикробной терапии инфицированных лучевых повреждений кожи у экспериментальных животных приводило не только к уничтожению внесенных микробов, но и способствовало активизации собственных эндогенных антимикробных механизмов в виде нормализации уровня оксида азота в сыворотке крови и активности миелопероксидазы в нейтрофилах, что свидетельствовало о восстановлении их функциональных свойств.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, лучевые язвы, *Pseudomonas aeruginosa*, оксид азота, миелопероксидаза.

Одним из основных механизмов фотодинамического воздействия является активация свободнорадикального окисления (СРО). Кванты света возбуждают молекулы фотоактивного вещества (фотосенсибилизатора), специально введенного в поражаемые клетки, до образования биоцидных радикалов [1].

Известно, что чрезмерная активация СРО может усиливать развитие вредных реакций при патологических состояниях. Однако в фотодинамической терапии поражающий эффект свободных радикалов успешно используется для уничтожения нежелательных клеток, главным образом опухолевых или бактериальных.

В физиологических условиях свободнорадикальное окисление является нормальным процессом, оно

происходит в результате естественного метаболизма кислорода в окислительно-восстановительных реакциях и сопровождается образованием различных свободных радикалов. В их числе перекись водорода, супероксидные радикалы, а также монооксид азота. Эти и другие свободные радикалы играют важную роль в гомеостазе (в работе дыхательной цепи, синтезе простагландинов, лейкотриенов, стероидных гормонов, а также принимают активное участие в процессах иммунитета, главным образом в фагоцитозе) [1].

Одним из важнейших свободных радикалов, принимающих участие в функционировании эндогенных бактерицидных механизмов организма, является монооксид азота (NO) [2]. Он относится к числу основных регуляторов жизнедеятельности и выполняет в организме множество разнообразных функций. Монооксид азота является важным медиатором антибактериальной

иммунной системы. В зависимости от фазы иммунного ответа NO выполняет регуляторные или эффекторные функции, синтезируется практически во всех иммунокомпетентных клетках и принимает активное участие в уничтожении бактерий. К прямому антибактериальному механизму действия NO относится его способность соединяться с кислородными радикалами, например, с супероксидом с образованием агрессивных радикалов — пероксинитритов, повреждающих мембраны бактериальных клеток [2, 3].

В патогенезе заживления лучевых язв названные функции NO имеют первоочередное значение, поскольку его антибактериальный эффект активно влияет на заживление инфицированных повреждений кожи, в том числе лучевого генеза.

Известно также, что одним из важнейших звеньев в молекулярных антибактериальных механизмах лейкоцитов крови является фермент миелопероксидаза (МПО), определяющий бактерицидные свойства лейкоцитов [4].

Этот фермент в основном содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов, а также в моноцитах и некоторых тканевых макрофагах. Среди гранул, содержащих различные лейкоцитарные ферменты, имеются и специализированные антимикробные органеллы с пероксидазами — пероксидазосомы [5].

Миелопероксидаза является важным звеном бактерицидного механизма неспецифического иммунитета. Механизм уничтожения микробных агентов нейтрофилами или фагоцитами главным образом обеспечивается двумя путями. Во-первых, активируется свободнорадикальный механизм и генерируются кислородные радикалы — перекись водорода и супероксиды. Перекись водорода, взаимодействуя с МПО, образует комплекс, способный окислять ионы галогенов (хлор, бром, йод), из которых наиболее сильным антимикробным агентом является гипохлорит.

Во вторую очередь включается другой ферментативный бактерицидный механизм лейкоцитов, связанный с действием разных гидролитических ферментов, лизоцима и других белковых и пептидных субстанций. При этом завершается уничтожение уже фагоцитированных микробных тел [6]. Однако считается, что пусковым механизмом ферментов всего бактерицидного действия лейкоцитов является именно МПО.

В целом, NO и МПО играют важную роль в эндогенных антибактериальных механизмах неспецифического иммунитета.

При лучевых повреждениях кожи развивается угнетение всех ее защитных механизмов, а также общего и местного иммунитета [7]. Поэтому большое значение имеет выбор антибактериального метода лечения, так как многие из уже известных не имеют достаточной эффективности.

В наших предыдущих работах [7, 8] была экспериментально показана высокая антибактериальная эффективность метода фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении инфицированных лучевых повреждений кожи, при котором уже спустя сутки после сеанса ФДТ достигалась полная элиминация микробов из лучевой

язвы кожи, инфицированной даже таким высокопатогенным микробным штаммом, как *P. aeruginosa*. В литературе мы не нашли сведений о влиянии ФДТ на какие-либо эндогенные бактерицидные механизмы у животных с локальным облучением.

В связи с этим была обозначена цель настоящей работы — изучить влияние фотодинамического воздействия на состояние показателей эндогенной антибактериальной защиты (оксида азота и фермента миелопероксидазы) у животных с инфицированными лучевыми язвами.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы 90 самцов крыс линии Вистар с массой тела 180–200 г.

Всех животных содержали в одинаковых стандартных условиях (еда и вода ad libitum). Манипуляции с подопытными животными и вывод их из эксперимента проводили под наркозом с соблюдением правил эвтаназии соответственно принципам «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» и методическими рекомендациями «Биоэтическая экспертиза доклинических и других научных исследований, выполняющихся на животных» [9, 10], а также на основании соглашения комитета по биомедицинской этике клинических и экспериментальных исследований ГУ «ИМП НАМН Украины» для выполнения НИР (шифр НАМН.02.14, № государственной регистрации 0114U000058).

Лучевые язвы получали при локальном облучении участка кожи на внешней поверхности бедра крысы в дозе 85,0 Гр на рентгентерапевтическом аппарате TUR-60. Условия облучения были следующими: напряжение $U = 50$ кВ, анодный ток $I = 10$ мА, фильтр 0,6 мм Al, эффективная энергия 18 кэВ.

Подопытные животные были разделены на 4 группы: 1 — интактные животные (20 крыс, «норма»); 2 — крысы с лучевой язвой кожи (20 крыс, 1-й контроль); 3 — крысы с лучевой язвой, инфицированной *Pseudomonas aeruginosa* (20 крыс, 2-й контроль); 4 — крысы с лучевой язвой, инфицированной *P. aeruginosa*, и лечением методом ФДТ (30 крыс, опытная группа).

Лучевые повреждения кожи у животных из групп 3 и 4 инфицировали на 7-е сутки после локального облучения при появлении признаков развития лучевой язвы штаммом бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Для инфицирования использовался музейный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853, полученный из музея живых микроорганизмов лаборатории специфической профилактики капельных инфекций отдела микробиологии ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины».

Фотодинамическая терапия проводилась через 24 часа после инфицирования с помощью фотонного аппарата «Барва-LED/630». Мощность фотонного излучения (P) — 25 мВт, длина волны (максимум поглощения излучения) — 630–650 нм, время фотонного облучения — 30 минут, энергетическая экспозиция за один сеанс — 45 Дж/см². В качестве фотосенсибилизатора (ФС)

использовали 0,1% водный раствор метиленового синего (Methylenum coeruleum). На раневую поверхность лучевой язвы наносили ФС с экспозицией 30 мин.

Забор биологического материала проводился на 7, 14, 21, 30 и 45 сутки после инфицирования.

Суммарное содержание стабильных метаболитов NO в сыворотке крови крыс определяли по методу В. А. Метельской [11]. Активность миелопероксидазы (МПО) крови определялась с помощью цитохимического метода и выражалась в показателях среднего цитохимического коэффициента (СЦК) [12].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA 10.0. Средние значения показателей сравнивали при помощи

критерия Манна-Уитни. Достоверность различий между средними значениями показателей считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Монооксид азота представляет собой нестабильное короткоживущее соединение, поэтому о его уровне в тканях судят по содержанию стабильных азотных метаболитов (нитратов и нитритов). В нашей работе содержание суммарных метаболитов NO определяли в сыворотке крови крыс в динамике развития лучевой язвы кожи, после инфицирования лучевой язвы и после воздействия на данное повреждение ФДТ. Полученные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

Содержание метаболитов оксида азота в сыворотке крови крыс при инфицировании лучевой язвы кожи и после воздействия ФДТ (мкмоль/л)

Группа крыс	Сроки наблюдения (после инфицирования), сут.				
	7	14	21	30	45
Интактная группа n = 20	44,8 ± 1,5 100,0%				
Лучевая язва n = 20	45,9 ± 2,4 102,5%	61,9 ± 3,7 138,2%*	61,8 ± 2,6 137,9%*	65,3 ± 4,9 145,8%*	78,4 ± 1,5 175,0%*
Лучевая язва + <i>P. aeruginosa</i> n = 20	38,6 ± 2,0 86,2%**	77,6 ± 0,6 173,2%**	78,2 ± 1,6 174,6%**	76,4 ± 3,7 170,5%*	69,8 ± 3,7 155,8%**
Лучевая язва + <i>P. aeruginosa</i> + ФДТ n = 30	43,6 ± 2,0 97,3%	46,18 ± 3,0 103,0%***	43,1 ± 2,1 96,2%***	42,8 ± 1,6 95,5%***	43,3 ± 2,7 96,7%***

* — различия достоверны между показателями интактной и опытных групп ($p < 0,05$); ** — различия достоверны между показателями у крыс с «чистой» лучевой язвой и инфицированной лучевой язвой; *** — различия достоверны между показателями у крыс с инфицированной лучевой язвой без лечения и после воздействия ФДТ.

Из приведенных данных видно, что в группе крыс с лучевой язвой без инфицирования заметное повышение содержания метаболитов NO развивалось с 14 суток наблюдений (на 30–40% от нормы, $p < 0,05$) и фиксировалось до конца эксперимента, достигая максимума к 45 суткам (175% от нормы, $p < 0,05$). В группе крыс с искусственным инфицированием лучевой язвы наблюдалась аналогичная тенденция, выраженная в еще большей степени, — с 14 суток после инфицирования уровень метаболитов NO резко повышался как относительно нормальных значений показателя (на 60–80%, $p < 0,05$), так и относительно показателей крыс с «чистой» лучевой язвой (на 20–40%, $p < 0,05$) в соответствующие сроки.

В группе крыс с инфицированными лучевыми язвами, где для их лечения использовали ФДТ, наблюдалась иная картина. С самого начала (7 сутки) и до конца эксперимента содержание метаболитов NO находилось в пределах нормы весь период наблюдений.

Таким образом, развитие лучевой язвы кожи у крыс сопровождалось повышением уровня метаболитов NO. Это, очевидно, может быть связано с выбросом данной субстанции из NO-образующих клеток, главным образом иммунокомпетентных клеток крови, в процессе их пострадиационной гибели.

Инфицирование лучевой язвы *P. aeruginosa* вызывало еще больший подъем уровня метаболитов

NO в сыворотке крови, однако не сразу — в первый срок наблюдений (7 сутки) было зафиксировано даже некоторое снижение показателя (на 14% от нормы, $p < 0,05$). Только через 14 суток после инфицирования было отмечено резкое повышение показателя, развивавшееся, очевидно, по мере восстановления ряда жизненно важных функций нелетально облученных животных, и в первую очередь — местного иммунитета [7]. Постепенно активирующиеся лейкоциты крови и тканей и тканевые макрофаги в ответ на действие инфекционного агента активизировали производство бактерицидных радикалов, в том числе NO. Однако при вялотекущем заживлении инфицированной лучевой язвы этот процесс был длительным и не прекращался до конца эксперимента [8].

Использование ФДТ в качестве антибактериальной терапии и уничтожение инфекционного агента в зоне лучевой язвы приводило к быстрому снижению уровня метаболитов оксида азота в организме крыс, компенсируя необходимость сверхпроизводства бактерицидных радикалов и нормализуя в целом состояние свободнорадикального окисления в организме.

О влиянии ФДТ на эндогенные антимикробные механизмы путем системного влияния свидетельствует динамика миелопероксидазы у животных с инфицированными лучевыми язвами, приведенная в табл. 2. Показателем активности МПО служит средний цитохимический коэффициент (СЦК).

Активність мієлопероксидази в сировотці крові крыс при інфіцированні лучової язви шкіри і після впливу ФДТ (в умовних одиницях середнього цитохімічного коефіцієнта — СЦК), у. е.

Група крыс	Срок наблюдения (после инфицирования), сут.				
	7	14	21	30	45
Интактная группа n = 20	2,27 ± 0,02 100,0%				
Лучевая язва n = 20	1,59 ± 0,17 70,0% *	1,79 ± 0,07 78,9% *	1,50 ± 0,06 66,1% *	1,48 ± 0,11 65,2% *	2,06 ± 0,12 90,7%
Лучевая язва + <i>P. aeruginosa</i> n = 20	1,27 ± 0,07 56,0% *	1,37 ± 0,11 60,4% **	1,42 ± 0,10 62,6% *	1,68 ± 0,21 74,0% *	1,17 ± 0,03 51,5% **
Лучевая язва + <i>P. aeruginosa</i> + ФДТ n = 30	2,60 ± 0,10 114,5% ***	2,28 ± 0,11 100,4% ***	2,38 ± 0,03 104,8% ***	2,37 ± 0,11 104,4% ***	2,39 ± 0,05 105,3% ***

* — различия достоверны между показателями интактной и опытных групп ($p < 0,05$); ** — различия достоверны между показателями у крыс с «чистой» лучевой язвой и инфицированной лучевой язвой; *** — различия достоверны между показателями у крыс с инфицированной лучевой язвой без лечения и после воздействия ФДТ.

В группе животных с «чистой» лучевой язвой уже с 7-х суток развивался дефицит МПО в крови — значения показателя были снижены на 20–35% от нормы ($p < 0,05$) почти весь период наблюдений, однако к концу эксперимента (45 сутки) нормальный уровень активности фермента восстанавливался.

Инфицирование лучевого повреждения патогенным микробным штаммом *P. aeruginosa* значительно усугубляло ситуацию. Активность МПО в лейкоцитах снижалась в еще большей степени — в 1,5–2 раза относительно нормы ($p < 0,05$), в отдельные сроки была ниже показателя у облученных животных без инфицирования. Подобный дефицит МПО стабильно сохранялся до конца эксперимента (45 сутки). В отличие от животных с «чистой» лучевой язвой восстановление данного показателя в период наблюдений не отмечалось.

У животных с инфицированной язвой, которых лечили с помощью ФДТ, активность МПО не только не снижалась, а даже в начале наблюдений было зафиксировано превышение нормы на 15% ($p < 0,05$). В дальнейшие сроки активность МПО восстанавливалась до нормальных значений.

Таким образом, весь период длительного спонтанного заживления лучевых язв у крыс отмечался дефицит МПО, более глубокий при инфицировании лучевого повреждения. Очевидно, это можно пояснить истощением запасов и производства нейтрофильных гранулоцитов, выполняющих фагоцитарную и антимикробную функции. Следует учитывать, что действие радиации на кожу крыс значительно угнетает местный иммунитет и защитные механизмы кожи [13]. В этих условиях значительно повышаются

затраты антимикробных резервов нейтрофилов, а их адекватное возмещение в процессе нейтрофильного гранулопоза в костном мозге или значительно запаздывает (у крыс с «чистой» лучевой язвой), или вообще не происходит (инфицированная лучевая язва). То есть у инфицированных животных происходило полное истощение антимикробных механизмов.

Действие ионизирующей радиации, даже локальное, приводило к повышению уровня NO в крови, что, очевидно, было связано с пострadiационным разрушением и массовой гибелью NO-продуцирующих клеток. Дополнительное инфицирование вызывало еще больше увеличение содержания данного радикала, направленное на борьбу с инфекцией. Впрочем, длительное повышение уровня NO значительно ухудшает общий свободнорадикальный статус в организме, а образующийся под действием NO пероксинитрит способен повреждать мембраны любых клеток и замедлять течение репарации. Воздействие ФДТ, приводившее к нормализации уровня NO, способствовало нормализации общего прооксидантного гомеостаза и ускорению заживления лучевой язвы. Восстановление нормального уровня МПО свидетельствовало о восстановлении функциональных свойств лейкоцитов.

ВЫВОДЫ

В целом, применение ФДТ как антимикробной терапии приводило не только к уничтожению внесенных микробов, но и создавало предпосылки для восстановления собственных эндогенных антимикробных механизмов у крыс с инфицированными лучевыми повреждениями.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Узденский А. Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии / А. Б. Узденский. — М.: Наука, 2010. — 321 с.
2. Кузнецова В. Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия / В. Л. Кузнецова, А. Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № 4. — С. 57–65.
3. Ковальчук Л. В. Роль оксида азота в иммунопатогенезе стафилококковых инфекций / Л. В. Ковальчук, З. Ф. Хараева // Иммунология. — 2003. — № 3. — С. 186–188.

4. Рулева Н. Ю. Миелопероксидаза: биологические функции и клиническое значение / Н. Ю. Рулева, М. А. Звягинцева, С. Ф. Дугин // Современные наукоемкие технологии. — 2007. — № 8. — С. 1–4.
5. *Myeloperoxidase and paraoxonase 1 are high-density lipoprotein-associated proteins mechanistically linked to inflammation, oxidant stress and atherosclerosis* / Y. Huang, Z. Wu, M. Riwanto et al. // J. Clin. Invest. — 2013. — Vol. 123, N 9. — P. 3815–3828.
6. Старикова М. А. Свободнорадикальный потенциал нейтрофилов и его роль в механизме реализации специфических функций фагоцитирующих клеток: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.13 — физиология / Старикова Марина Александровна; ГУ «Приволжский исследовательский медицинский университет». — Нижний Новгород, 2002. — 22 с.
7. Морфологическая характеристика и особенности заживления лучевой язвы кожи, инфицированной *Pseudomonas aeruginosa* / Н. В. Красносельский, Л. И. Симонова-Пушкар, А. Т. Гони-Симеха, И. В. Сорокина, М. С. Мирошниченко, Н. В. Гольева // Міжвідомчий медичний журнал «Наука і практика». — Київ, 2017. — № 1–2. — С. 64–70.
8. Красносельский Н. В. Влияние фотодинамической терапии на заживление лучевой язвы кожи, инфицированной *Pseudomonas aeruginosa* / Н. В. Красносельский, Л. И. Симонова, В. З. Гертман, Е. С. Пушкар // Проблеми радіаційної медицини і радіобіології: зб. наук. пр. — Київ, 2017. — Вип. 22. — С. 202–207.
9. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. рекомендації / укл.: О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісн. фармакології та фармакопеї. — 2006. — № 7. — С. 47–60.
10. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Council of Europe. — Strasbourg, 1986. — 53 p.
11. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — № 6. — С. 15–18.
12. Карпищенко А. И. Цитохимический метод определения активности пероксидазы (миелопероксидазы) в нейтрофильных гранулоцитах / под ред. А. И. Карпищенко // Медицинские лабораторные технологии. Справочник. — СПб.: Интермедика, 1999. — Т. 2. — С. 298.
13. Особенности микробиоценоза кожи лабораторных животных после воздействия ионизирующей радиации / Л. И. Симонова-Пушкар, Н. И. Склиар, В. З. Гертман и др. // Укр. радіол. журн. — 2015. — Т. XXIII, вип. 1. — С. 23–29.

Статья поступила в редакцию 1.11.2018.

Л. І. СИМОНОВА, В. З. ГЕРТМАН, О. С. ПУШКАР, Н. В. ЛЯХОВСЬКА

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків

ВПЛИВ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЕНДОГЕННІ АНТИМІКРОБНІ МЕХАНІЗМИ ПРИ ЛІКУВАННІ ІНФІКОВАНИХ ПРОМЕНЕВИХ УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ

Мета роботи. Вивчення фотодинамічного впливу на стан показників ендogenous антибактеріального захисту (оксиду азоту і ферменту міелопероксидази) у тварин з інфікованими променевими виразками.

Матеріали і методи. Робота проведена на 90 щурах-самцях з локальним Ікс-опроміненням ділянки шкіри стегна в дозі 85,0 Гр. При появі ознак променевої виразки (7-ма доба) опромінену ділянку інфікували штамом *Pseudomonas aeruginosa*. Через добу на інфіковану променеву виразку тваринам дослідної групи (30 щурів) проводили сеанс ФДТ на апараті «Барва-LED / 630» з фотосенсибілізатором метиленовим синім. У сироватці крові визначали сумарний вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (NO) і активність міелопероксидази (МПО) в нейтрофілах цитохімічним методом.

Результати. Встановлено, що розвиток «чистої» променевої виразки супроводжувався підвищенням рівня метаболітів NO в сироватці крові (на 30–40% від норми) за весь період спостережень. Інфікування променевої виразки значно збільшувало викид метаболітів в сироватку (підвищення становило 80%). Після сеансу ФДТ зазначалося стабільне зниження показника до нормальних значень. Паралельно, на фоні розвитку променевої виразки, в нейтрофілах розвивався дефіцит МПО. При «чистій» променевої виразці активність ферменту знижувалася (на 20–35%) протягом 30 діб, однак до кінця експерименту (45 доба) відновлювалася. При інфікуванні променевої виразки спостерігалось прогресування зниження активності МПО в 1,5–2 рази, яка була значно нижче, ніж у тільки опроміненіх щурів, і нормалізація показників була відсутня за весь період спостережень. У тварин з інфікованою виразкою і лікуванням за допомогою ФДТ активність МПО відновлювалася до нормальних значень практично відразу після елімінації.

Висновки. Застосування ФДТ для антимікробної терапії інфікованих променевих ушкоджень шкіри в експериментальних тварин призводило не тільки до знищення внесених мікробів, а й сприяло активізації власних ендogenous антимікробних механізмів у вигляді нормалізації рівня оксиду азоту в сироватці крові і активності міелопероксидази в нейтрофілах, що свідчило про відновлення їх функціональних властивостей.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, променеві виразки, *Pseudomonas aeruginosa*, оксид азоту, міелопероксидаза.

L. I. SIMONOVA, V. Z. HERTMAN, O. S. PUSHKAR, N. V. LIAKHOVSKA

SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

PHOTODYNAMIC THERAPY IMPACT ON ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL MECHANISMS IN TREATMENT OF INFECTED RADIATION SKIN INJURIES

Purpose. Study of photodynamic effect on endogenous antibacterial protection indices (nitric oxide and enzyme myeloperoxidase) in animals with infected radiation ulcers.

Material and methods. The study enrolled 90 male rats with local X-irradiation of the hip skin at a dose of 85.0 Gy. When the signs of a radiation ulcer (day 7) appeared, the irradiated area was infected with *Pseudomonas aeruginosa* strain. One day later, the experimental group animals (30 rats) with the infected radiation ulcers were exposed to photodynamic therapy by means of Barva-LED/630 device with a methylene blue photosensitizer. In blood serum, the total content of stable metabolites of nitric oxide (NO) and myeloperoxidase (MPO) activity in neutrophils was assessed by cytochemical method.

Outcomes. It has been established that the development of “pure” ulcer was accompanied by an increased level of NO metabolites in blood serum (30–40% out of normal) over the entire observation period. Infection of the radiation ulcer significantly increased the release of metabolites into blood serum (80%). After PDT, a steady decrease to normal values was observed. At the same time, the development of MPO deficiency in neutrophils associated with radiation ulcer was noted. In the case of “pure” ulcer, enzyme activity was decreased (by 20–35%) during 30 days, however by the end of the experiment (day 45) it was restored.

When the ulcer was exposed to infection, there was a progression of decreased activity of MPO by 1.5–2 times, which was significantly lower than in just irradiated rats and normalization of the parameters was absent for the entire observation period. In animals with an infected ulcer which was exposed to PDT, MPO activity was restored to normal values almost immediately after elimination.

Conclusions. Applying PDT for antimicrobial therapy of infected radiation skin lesions in experimental animals resulted not only in the destruction of the introduced microbes, but also contributed to the activation of its own endogenous antimicrobial mechanisms in the form of normalization of the level of nitric oxide in serum and the activity of myeloperoxidase in neutrophils, indicating the restoration of their functional properties.

Keywords: Photodynamic therapy, Radiation ulcers, *Pseudomonas aeruginosa*, nitric oxide, myeloperoxidase.

Контактная информация:

Симонова Лариса Ивановна

главный научный сотрудник, д-р мед. наук, профессор лаборатории радиационной онкологии

ГУ «ИМР НАМН Украины»

ул. Пушкинская, 82, г. Харьков, 61024, Украина

тел.: +38 (067) 573-85-92

E-mail: patphysiologia_imr@ukr.net