

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Л.І. Сімонова,
Т.П. Якімова,
О.А. Радченко,
В.З. Гертман,
Л.В. Білогурова,
С.М. Пушкар

ДУ Інститут медичної
радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України, Харків,
Харківська медична академія
післядипломної освіти

Морфологічна картина розвитку променевої ушкоджень шкіри у щурів при спонтанному загоєнні та при дії фототерапії

Morphological picture of skin radiation lesion development in rats at spontaneous healing and at phototherapy

Цель работы: Исследование действия фотоматричной терапии монохроматическим светом оптического диапазона на морфофункциональную картину заживления радиационного поражения кожи у крыс после локального облучения.

Материалы и методы: Исследование проведено на 28 половозрелых самцах крыс линии Вистар с массой тела 180–200 г с однократным локальным рентгеновским облучением (ЛО) участка бедра правой конечности. Рентгеновское облучение в дозе 80,0 Гр проводили на рентгенотерапевтическом аппарате TUR-60. Фотонное действие на облучаемый участок кожи крысы начинали в день рентгеновского облучения. Курс фототерапии (ФТ) составлял 5 суток (3 сеанса по 20 мин в течение суток). Использовали фотонное матричное устройство «Барва-Флекс» с матрицами сверхярких светодиодов красного и синего цветов. Животные были разделены на 3 группы — контрольную (крысы с ЛО) и 2 исследуемых группы, которые составили крысы с ЛО и ФТ красным или синим светом. Забор тканей для морфофункционального исследования проводили на 3, 7, 14, 21, 30 и 60-е сутки после облучения. Кусочки ткани из зоны локального облучения или лучевой язвы фиксировали в 10 % формалине и после парафиновой проводки гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван-Гизона.

Результаты: Анализ результатов морфологического исследования лучевого повреждения кожи (ЛПК) при ФТ красным или синим светом позволил обнаружить некоторые отличия в их действии. В ранний (7–14 сут.) период развития местных лучевых повреждений ФТ не оказывала заметного лечебного воздействия, однако создавала предпосылки для последующих репаративных процессов в очаге лучевого поражения. Синий свет значительно раньше стимулировал локальный иммунный ответ на воспаление, что проявлялось уже на 7-е сут. При лечении синим светом размеры поверхностного некроза также уменьшались в большей степени, причем намного раньше (уже на 21-е сут.), чем в контрольной и «красной» группе. Процессы организации некроза глубоких слоев кожи шли со значительным опережением в «синей» группе, в то же время при лечении красным светом, рядом с организацией, в этих слоях еще долго сохранялись мелкие некрозы и незрелая грануляционная ткань.

Выводы: У крыс с локальным лучевым поражением кожи, которые получали ФТ, уже на 30-е сут. практически завершилась эпителизация и полная фибротизация всех глубоких слоев раны, в то же время, в контрольной группе эпителизация и частичная фибротизация лучевой язвы начинались только на второй месяц наблюдений. При применении синего света признаки активации фибриллогенеза и репарации в зоне лучевого повреждения наблюдались еще до 30-х суток. Терапевтический эффект синего света доминировал над красным в связи с более ранней стимуляцией клеточных и иммунных реакций в дерме.

Ключевые слова: фототерапия, светодиоды, местные лучевые повреждения, морфофункциональные исследования.

Objective: To investigate the effect of photomatrix therapy with monochromic light of the optic range on the morphofunctional picture of radiation lesion healing in rats after local irradiation.

Material and Methods: The study was performed on 28 adult male Wistar rats weighing 180-200g with single local x-ray exposure (LE) of the right thigh area.

X-ray exposure at a dose of 80.0 Gy was performed with a radiotherapy unit TUR-60. Photon treatment of the irradiated area started on the day of exposure. The course of photon therapy (PT) lasted 5 days (3 treatments 20 minutes each during the day). Photon matrix unit "Barva-Fleks" with matrices of super-bright red and blue light diodes was used. All animals were divided into 3 groups: controls (rats with LE), and 2 study groups consisting of rats with LE and PT with red or blue light. The tissue for morphology investigation was taken on days 3, 7, 14, 21, 30 and 60 after the exposure. The tissue from the area of local exposure or radiation ulcer was fixed in 10% formalin and after paraffin treatment the slices were stained with hematoxylin-eosin according to Van Gieson.

Results: The analysis of the morphology findings of the skin radiation lesion (SRL) at PT with red or blue light allowed to reveal some differences in their action. In early (days 7-14) period of local radiation lesion development PT did not promote considerable therapeutic effect but created conditions for further reparative processes in the focus of radiation lesion. Blue light stimulated local immune response to inflammation earlier, which was observed on day 7. Treatment with blue light diminished the size of superficial necrosis much earlier (on day 21) than in the controls and in the "red" group. Necrosis organization processes in the deep layers of the skin developed more rapidly in the "blue" group, while when treating with red light, small necroses and immature granulation tissue persisted in these layers for long time.

Conclusion: In rats with local RSL which were delivered phototherapy epithelization and complete fibrotization of all skin layers of the wound were over on day 30, while in the controls epithelization and partial fibrotization of radiation ulcer occurred only on the second month of the observation. At application of blue light, the signs of fibronogenesis activation and reparation in the zone of radiation lesion were observed before day 30. Therapeutic effect of blue light dominated over red light due to earlier stimulation of cellular and immune reactions in the derma.

Key words: phototherapy, light diodes, local radiation lesions, morphofunctional investigation.

Мета роботи: Дослідження дії фотоматричної терапії монохроматичним світлом оптичного діапазону на морфофункціональну картину загоєння радіаційного ураження шкіри у щурів після локального опромінення.

Матеріали та методи: Дослідження проведено на 28 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар з масою тіла 180–200 г з одно-разовим локальним рентгенівським опроміненням (ЛО) ділянки стегна правої кінцівки. Рентгенівське опромінення в дозі 80,0 Гр проводили на рентгенотерапевтичному апараті TUR-60. Фотонну дію на опромінювану ділянку шкіри щура починали в день рентгенівського опромінення. Курс фототерапії (ФТ) складав 5 д. (3 сеанси по 20 хв протягом доби). Використовували фотонний матричний пристрій «Барва-Флекс» з матрицями надяскравих світлодіодів червоного і синього кольорів. Усі тварини були розподілені на 3 групи — контрольну (щури з ЛО) та 2 дослідних, у які ввійшли щури з ЛО та ФТ червоним або синім світлом. Забір тканин для морфофункціонального дослідження проводили на 3, 7, 14, 21, 30 і 60-ту д. після опромінення. Шматочки тканини із зони локального опромінення або променевої виразки фіксували в 10 %-вому формаліні і після парафінової проводки гістологічні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і за методом Ван-Гізона.

Результати: Аналіз результатів морфологічного дослідження променевого ушкодження шкіри (ПУШ) при ФТ червоним або синім світлом дозволив виявити деякі відмінності в їх дії. У ранній (7–14 д.) період розвитку місцевих променевих ушкоджень ФТ не справляла помітної лікувальної дії, проте створювала передумови для подальших репаративних процесів в осередку променевого ураження. Синє світло значно раніше стимулювало локальну імунну відповідь на запалення, що виявлялося вже на 7-му д. При лікуванні синім світлом розміри поверхневого некрозу також зменшувалися більшою мірою, причому набагато раніше (вже на 21-шу д.), ніж у контрольній і «червоної» групі. Процеси організації некрозу глибоких шарів шкіри рухалися зі значним випередженням у «синій» групі, тоді як при лікуванні червоним світлом, поряд з організацією, в цих шарах ще довго зберігалися дрібні некрози і незріла грануляційна тканина.

Висновки: У щурів з локальним ПУШ, які отримували фототерапію, вже на 30-ту добу практично завершувалася епітелізація і повна фібротизація всіх глибоких шарів рани, тоді як у контрольній групі епітелізація та часткова фібротизація променевої виразки наставала тільки на другий місяць спостережень. При застосуванні синього світла ознаки активації фібрилогенезу і репарації в зоні променевого ушкодження спостерігалися ще до 30-ї доби. Терапевтичний ефект синього світла домінував над червоним у зв'язку із більш ранньою стимуляцією клітинних та імунних реакцій у дермі.

Ключові слова: фототерапія, світлодіоди, місцеві променеві ушкодження, морфофункціональні дослідження.

Післярадіаційні реакції та ушкодження розвиваються в шкірі або інших органах і тканинах, що оточують пухлину, яка зазнає радіаційного навантаження в процесі променевої терапії (ПТ). Згідно з літературними даними, променеві ушкодження шкіри (ПУШ) та навколишніх тканин виникають у 40–45% випадків [1–3]. Сучасний рівень наукових та технічних досягнень дозволяє з нових позицій підійти до проблеми підвищення ефективності профілактики і лікування ПУШ, які взагалі дуже важко піддаються курації [4].

У механізмі виникнення променевих ушкоджень тканин і шкіри велику роль відіграють розлади внутрітканинної гемодинаміки у вигляді порушень мікроциркуляції, процесів гемостазу, реологічних властивостей крові, зменшення кількості та функціональної активності фібробластів. На жаль, різні способи консервативного лікування ПУШ, зазвичай, мають обмежену дію, спрямовану на певну ланку у складному механізмі патогенезу пострадіаційних порушень у тканинах. Однак очевидно, що успішна патогенетична терапія ПУШ та підлеглих тканин повинна впливати на максимально можливу кількість ланок патогенезу. А саме, лікувальна дія повинна бути спрямована на пригнічення запальних процесів, активування репаративного потенціалу тканин, відновлення локальної гемодинаміки. Таким вимогам відповідають сучасні методи фототерапії, де як джерело світла застосовують надяскраві світлодіоди у видимому оптичному діапазоні [5–7].

Метою даної роботи було дослідження дії фотоматричної терапії монохроматичним світ-

лом оптичного діапазону на морфофункціональну картину загоєння радіаційного ураження шкіри у щурів після локального опромінення.

Методика дослідження

Дослідження проведено на 28 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар з масою тіла 180–200 г.

Експериментальне моделювання місцевих променевих ушкоджень (МПУ) шкіри та підлеглих тканин здійснювали на депільованій ділянці стегна правої задньої кінцівки за допомогою рентгенівського випромінення. Одноразове локальне рентгенівське опромінення в дозі 80,0 Гр проводили на рентгенотерапевтичному апараті TUR-60.

Умови опромінення щурів були такі: напруга на трубіці $U = 50$ кВ, анодний струм $I = 10$ мА, фільтр 0,6 мм Al. Шар половинного ослаблення при цих умовах склав 0,52 мм Al, що відповідало ефективній енергії 18,0 КеВ. На вихідному вікні апарата впритул (без тубуса) розташовували діафрагму із свинцю з діаметром отвору 10 мм. На діафрагму встановлювали кільце з поліметилметакрилату (ПММА) товщиною 15 мм і діаметром внутрішнього отвору 20 мм для усунення крайових ефектів на шкірі тварини. Площа опромінення при цьому складала приблизно 400 мм².

Одноразове опромінення в дозі 80,0 Гр викликало у піддослідних тварин розвиток ПУШ, аж до виникнення променевих виразок.

Для профілактики і фототерапії ПУШ використовували фотонний матричний пристрій «Барва-Флекс» з матрицями надяскравих світлодіодів червоного і синього кольорів (660 і 470 нм). Потужність оптичного випромінення кожного світлодіода складала 5 мВт.

Локальну фотонну дію на опромінювану ділянку шкіри щура починали в день рентгенівського опромінення. Курс фототерапії складав 5 д. (3 сеанси по 20 хв протягом доби).

Піддослідні щури були розділені на 3 групи: контрольну — 10 особин з одноразовим локальним рентгенівським опроміненням (ЛО) в дозі 80,0 Гр депільованої ділянки стегна правої задньої кінцівки; дослідну I — 6 щурів з ЛО і фототерапією червоним світлом ($\lambda_{\max} = 660$ нм) — «червона» група;

дослідну II — 6 щурів з ЛО і фототерапією синім світлом ($\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ нм}$) — «синя» група.

Забір тканин для морфофункціонального дослідження проводили на 3, 7, 14, 21, 30, 60-ту д. після опромінення. Шматочки тканини із зони локального опромінення або променевої виразки фіксували в 10 % -вому формаліні і після парафінової проводки [8] гістологічні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і за методом Ван-Гізона.

Дослідження здійснювали під контролем Комітету з медичної етики ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України. При їх виконанні додержувалися всіх вимог щодо утримання лабораторних тварин відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та норм біомедичної етики, які відповідають Закону України «Про захист від жорстокого поводження...» (Київ, 2006) і погоджені з положенням «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [9].

Статистичне опрацювання одержаних результатів проводили на ПК за допомогою пакета програм Statistica з використанням параметричних та непараметричних методів. Розбіжності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

При візуальному спостереженні шкіри в зоні локального опромінення в дозі 80,0 Гр вже через 24 год з'являлися перші ознаки МПУ. Надалі розвиток експериментальних МПУ в опроміненіх одноразово в дозі 80,0 Гр щурів контрольної групи проходив наступні стадії:

I — 1–2 д.: після локального опромінення — поява еритеми на всій ділянці МПУ;

II — 2–3 д.: ознаки дерматиту з точковими крововиливами на окремих ділянках опроміненої шкіри, розвиток набряку;

III — 7–8 д.: приблизно у половини тварин помітні ознаки сухого дерматиту з лущенням шкіри і утворенням тонких сухих прозорих жовтих струпів; у частинки опроміненіх тварин — ознаки розвитку вологого дерматиту з утворенням червоних щільних струпів і виділенням ексудату;

IV — 10–14 д.: у більшості тварин (60–70 %) виникали променеві виразки, переважно з гнійними виділеннями.

Спонтанне загоювання променевих виразок або дерматиту у щурів контрольної групи почалося приблизно з 30–35-ту д. та мало досить повільний перебіг. Повне спонтанне загоєння усіх променевих дефектів шкіри у середньому наставало до 60–65-ї д., однак остаточне загоєння з відновленням вовняного покриву в більшості випадків відбувалося лише наприкінці 3-го місяця спостережень.

Мікроскопічні зміни в шкірних біоптатах виявляли вже на I стадії після опромінення у вигляді різкого повнокрів'я судин і стазу. Виражені зміни з альтерацією тканин спостерігали на II стадії

розвитку МПУ, приблизно на 3-тю д. після ЛО. У цей період починалися стоншування і деструкція епідермісу. Зберігалось різке повнокрів'я судин і стаз крові в них. Придатки шкіри ще були збережені, хоча волосяні фолікули і сальні залози вже були оточені набряклою сполучною тканиною (рис. 1).

На III стадії розвитку МПУ (7–8-ма д.) проявлялися виражена дистрофія і стоншення епідермісу в опроміненій ділянці шкіри, а також у прилеглих до неї зонах. Епітеліоцити були з нечіткими межами ядра і цитоплазми. Дерма, особливо у верхніх відділах, набрякла, колагенові волокна фрагментовані, гомогенізовані, дистанційовані. Придатки шкіри на цій стадії МПУ вже були атрофовані. У нижніх відділах ретикулярного шару дерми відмічали набряк, некроз колагенових волокон та їх пікринофілію. У гіподермі й у м'язовій тканині виявлялися величезні некрози з наявністю флегмонозного запалення, але вже були помітні ознаки початку організації некрозу на периферії і в центрі ушкодження. Серед клітинних елементів 70 % клітинного складу припадало на частку нейтрофільних гранулоцитів, а 30 % були представлені лімфоцитами і плазматичними клітинами в рівних кількостях. У клітинних популяціях в осередках організації МПУ було помітно невелику кількість молодих, дуже великих фібробластів із фестончастою об'ємною цитоплазмою, втім, ще дуже мало (рис. 2).

До 14-ї д. спостереження (IV стадія) загалом сформувалася шкірна променева виразка, вкрита на поверхні гнійно-некротичною скоринкою завтовшки 0,2 см. Шкіра була повністю позбавлена придатків. Під некротичною скоринкою в деяких тварин виявлявся некроз дерми глибиною до 1,5 см, а також некроз гіподерми і м'язової тканини (рис. 3).

Було також виявлено запальний інфільтрат із помірною лейкоцитарною імбібіцією осередку ураження. Поряд з некротичною ділянкою в дермі і гіподермі спостерігалися вогнища набряку і лімфоїдної інфільтрації. На місці загиблості м'язової тканини виникала новоутворена сполучна тканина, колагенові волокна якої відрізнялися пікринофілією при забарвленні за Ван-Гізонам. Кількість фібробластів у полі зору досягла 120–150 екз., в середньому — $135,20 \pm 9,14$ екз. ($\times 280$). У дермі попередня сполучна тканина, що оточувала МПУ, ще перебувала в стані дезорганізації у зв'язку з набряклістю тканин, яка ще не минула. На 21-шу д. виявлялася слабка позитивна динаміка у бік загоєння виразки, при цьому в глибоких шарах дерми прогресували репаративні зміни.

До 30-ї д. на шкірі усе ще зберігалася променева виразка, але її розміри вже скорочувалися за рахунок крайової епітелізації. На місці загиблої тканини дерми посилювалася фібробластична реакція. Кількість фібробластів у полі зору досягала 396–408 екз., у середньому $402,18 \pm 12,72$ ($\times 280$). Разом з тим, більш чітко були виражені ушкодження нервових волокон. У дермі й гіподермі виявлялися нервові волокна із частково позбавленими ядер шваннівськими клітинами, місцями зі зруйнованими аксонами й фіброзом нервових волокон. На другий місяць спостережень у локально опромінених тварин поступово починалося більш активне загоєння променевого дефекту шкіри.

До 60-ї д. після ЛО виразкова поверхня на шкірі повністю епітелізувалась. Однак, в опроміненій ділянці шкіри виявлялися тільки поодинокі волосяні фолікули й сальні залози, тоді як у неопромінених зонах їх налічувалося від 70 до 80, у середньому $78,80 \pm 5,79$ у полі зору ($\times 70$). У поверхневих шарах дерми колагенові волокна були ущільнені, частково дезорієнтовані, кількість фібробластів знижувалася (до 5–8 у полі зору) й вони були меншими, ніж у більш ранній термін регенерації. Однак при цьому в уражених ділянках спостерігався капілярний васкуліт з периваскулярною лімфоїдною інфільтрацією. Гіподерма була ще набрякла, але вже організована, а в м'язовій тканині зберігалася молода грануляційна тканина з більшою кількістю капілярів (рис. 4).

Під час вивчення процесів розвитку і загоєння ПУШ при дії синім або червоним світлом на локально опромінену ділянку шкіри (80,0 Гр) був показаний не лише позитивний ефект фототерапії, але й виявлено деякі особливості відповіді тканин на потік квантів різних енергій.

Так, на 7-му д. після опромінення і фототерапії червоним світлом мав місце виражений дистрофічно-некротичний процес променевого генезу з ураженням всіх елементів шкіри, зокрема нервових волокон, в опроміненій зоні. Крім цього, на фоні помірної інфільтрації дерми лімфоцитами — ($78,80 \pm 3,20$ од.) в 2 рази була знижена кількість волосяних фолікулів — ($5,20 \pm 0,90$) проти ($11,5 \pm 1,1$) в нормі — при збільшенні мікроскопа, $\times 70$ і на третину знижувався вміст фібробластів — ($42,00 \pm 2,94$) проти ($69,80 \pm 5,30$) в нормі з домінуванням фібробластів як ознаки початку репаративних процесів.

Отже, на 7-му д. після локального опромінення шкіри і фототерапії червоним світлом поряд з розвитком альтеративних процесів у всіх шарах опроміненої ділянки шкіри виявляли ознаки репаративних процесів у сполучній тканині.

У наступні дні (14-та д.) продовжувався розвиток деструктивних, аж до некротичних, процесів — у 30 разів збільшилася товщина некротичної скориночки ($0,3$ см). Проте, в глибині м'язових тканин, особливо у м'язовій тканині, некротичні маси практично утилізувалися, за винятком окремих ділянок, збільшилася кількість капілярів у дермі до $18,5 \pm 1,3$ в полі зору. У епідермісі, прилеглому до виразкової поверхні, зберігся колишній рівень кількості шарів — $5,82 \pm 0,63$ у полі зору з ділянками гіперкератозу, при цьому кількість шарів доходила до 26.

Привертало увагу істотне посилення інфільтрації дерми лімфоцитами (250–300) в полі зору, при цьому кількість фібробластів знижувалася до ($26,50 \pm 0,95$) в полі зору, що можна було розцінювати як ознаку все ще низької активності репарації (рис. 5).

Загалом, уже в цей період, поряд з уповільненими репаративними процесами, спостерігалося відновлення кількості капілярів і посилення утилізації продуктів розпаду тканин.

У більш віддалені терміни (21 д.) активізувалися репаративні процеси, найбільш виражені у глибоких шарах дерми і в частці м'язової тканини, про що свідчило збільшення кількості капілярів — до ($48,14 \pm 3,20$) у полі зору і фібробластів до ($169,23 \pm 18,70$) в полі зору з формуванням грануляційної тканини.

При дії синім світлом ($\lambda_{\max} = 470$ нм) на опромінені ділянки шкіри на 7-му д. діаметр виразково-некротичної поверхні склав ($1,20 \pm 0,05$) см і не відрізнявся від попередньої («червоної») групи, а глибина її була дещо збільшена — ($0,60 \pm 0,09$) см.

Кількість капілярів ($14,81 \pm 4,10$) у полі зору, фібробластів ($38,60 \pm 3,20$) і шарів епідермісу ($3,50 \pm 0,12$) у прилеглих до ушкоджених тканин мало відрізнялася від попередньої «червоної» групи. Проте в цій групі була активізована імунна реакція зі збільшенням кількості лімфоцитів як у дермі, так і в гіподермі — ($146,00 \pm 4,20$) в полі зору.

У подальшому (на 14-ту д. спостереження), на відміну від «червоної» групи тварин, спостерігалася помітна активація регенераторних процесів, про що свідчило збільшення кількості капілярів — до ($18,22 \pm 1,30$) у полі зору і фібробластів до ($120,10 \pm 9,80$) у полі зору, поява молоді, новоутвореної сполучної тканини (рис. 6).

Таким чином, лікування синім світлом уже в більш ранні терміни спостереження (7–14-та д.) сприяло активації місцевих імунних реакцій і процесів регенерації.

До 21-ї д. діаметр виразки у тварин «синьої» групи зменшувався в 3 рази — ($0,40 \pm 0,01$) см

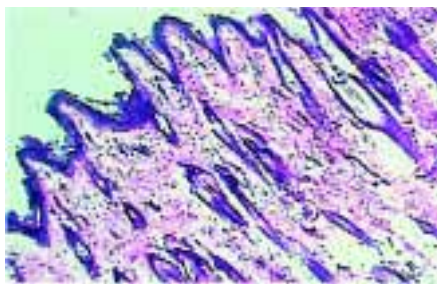


Рис. 1. Перша доба після опромінення. Осередковий набряк і стоншення епідермісу. Дифузний набряк дерми, гомогенізація і фрагментація колагенових волокон. Придатки шкіри збережені. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

Fig. 1. Day 1 after irradiation. Focal edema and thinning of the epidermis. Diffuse edema of the derma, homogenization and fragmentation of collagen fibers. Skin accessory organs are intact. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$

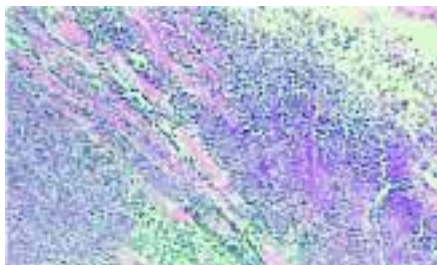


Рис. 2. Восьма доба після опромінення. Глибокий некроз і гнійна інфільтрація підшкірної жирової клітковини й м'язової тканини. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 80$

Fig. 2. Day 8 after irradiation. Deep necrosis and purulent infiltration of subcutaneous fat and muscular tissue. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 80$

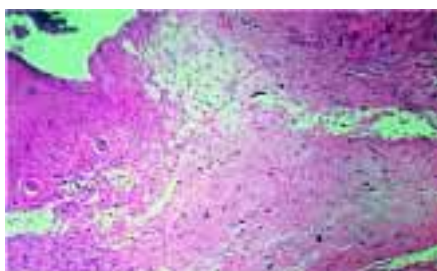


Рис. 3. Чотирнадцята доба після опромінення. Променева виразка. Глибокий фібриноїдний некроз м'яких тканин шкіри, гіподерми і м'язової тканини. Різкий набряк верхніх шарів дерми. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

Fig. 3. Day 14 after irradiation. Radiation ulcer, deep fibrinoid necrosis of skin soft tissues, hypoderma and muscular tissue. Acute edema of upper layers of the derma. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$

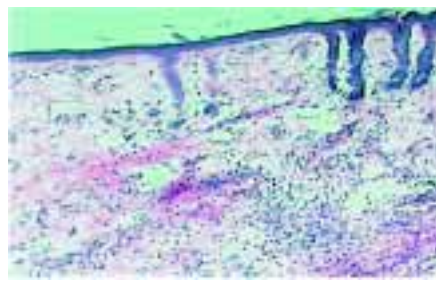


Рис. 4. Променева uszkodження шкіри на 60-ту д. На фоні візуального загоєння променевої виразки і епітелізації променевого uszkodження повного відновлення в дермі не сталося. Колагенові волокна окремо не візуалізуються, гомогенні щільні через склеротичні зміни. Хронічне імунне запалення ще триває на достатній глибині поля зору. Придатки атрофовані. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

Fig. 4. Day 60 after irradiation. In spite of visual healing of the radiation ulcer and epithelization of radiation lesion, complete restoration of the derma did not occur. The collagen fibers are not seen, are homogenic, dense due to sclerotic changes. Chronic immune inflammation persists deeply in the field of vision. The accessory organs are atrophied. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$



Рис. 5. Чотирнадцята доба після опромінення і фототерапії червоним світлом. Майже повна резорбція гнійно-некротичних мас, виражена лімфоїдна інфільтрація променевого uszkodження. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

Fig. 5. Day 14 after irradiation and phototherapy with red light. Almost complete resorption of purulent-necrotic masses, pronounced lymphoid infiltration of the radiation lesion. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$

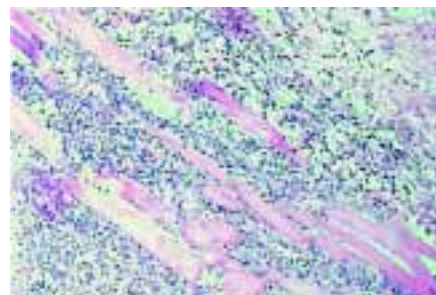


Рис. 6. Чотирнадцята доба після опромінення і фототерапії синім світлом. Глибокий некроз гіподерми і м'язової тканини з контрактурними змінами м'язових волокон. Вогнище uszkodження очистилося від нейтрофільних гранулоцитів і некротичної тканини. У правому кутку — новоутворена сполучна тканина; нижче — збільшена кількість капілярів. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

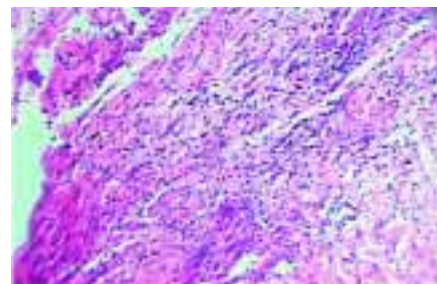


Рис. 7. Двадцять перша доба після променевого uszkodження і фототерапії синім світлом. Виражена резорбція з повною відсутністю гнійно-некротичних мас, фіброзація променевого uszkodження, різке зниження інтенсивності імунного запалення і кількості капілярів. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 70$

Fig. 7. Day 21 after irradiation and phototherapy with blue light. Pronounced resorption with complete absence of purulent necrotic masses, fibrosis of the radiation lesion, acute reduction of immune inflammation intensity and the number of capillaries. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$

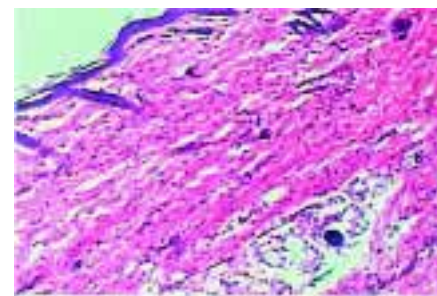


Рис. 8. Шістдесятя доба після променевого uszkodження і фототерапії синім світлом. Повне відновлення структури шкіри та її епітелізація. Придатки шкіри не візуалізуються, гіподерма фіброзована, але не склерозована. Колагенові волокна мають однонаправлене розташування, дещо дистанційоване через розширену мережу капілярів. У гіподермі залишаються невеликі скупчення лімфоїдної тканини. Забарвлення — гематоксилін-еозином, $\times 280$

Fig. 8. Day 60 after irradiation and phototherapy with blue light complete restoration of the skin structure and its epithelization. The accessory organs are not seen, hypoderma is fibrous but not sclerotic. The collagen fibers are located in one direction, somewhat at a distance due to widened capillary network. Small groups of tissue are present in the hypoderma. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 280$

Fig. 6. Day 14 after irradiation and phototherapy with blue light. Deep necrosis of hypoderma and muscular tissue with contracture changes in the muscular fibers. The focus of the lesion is free from neutrophil granulocytes and necrotic tissue. In the right corner, new connective tissue is observed, below it — increased amount of capillaries. Stained with hematoxylin-eosin, $\times 70$

проти ($1,20 \pm 0,01$) см. У дермі спостерігалася виражена лімфоїдна інфільтрація з нормальною кількістю шарів епідермісу ($5,60 \pm 0,92$) і капілярів ($24,20 \pm 3,20$) у полі зору. У глибоких шарах дерми відбулася добре виражена організація осередків ураження (рис. 7).

У віддалені терміни спостереження (30–60-та д.) в обох групах з фототерапією спостерігалися виражені процеси регенерації тканин. Проте, активність цих процесів у «синій» групі тварин була вищою, як за показниками вмісту фібробластів ($45,60 \pm 3,70$) проти ($75,90 \pm 4,80$) екз. в полі зору для червоного і синього світла відповідно, так і за об'ємом лімфоїдної інфільтрації. У м'язовій тканині в групі тварин, яких лікували червоним світлом, спостерігалася ще достатня кількість вогнищ лізису, хоча й невеликих розмірів.

В обох групах до 45-ї д. інтенсивність лімфоїдної інфільтрації знижувалася в межах до ($56,60 \pm 6,90$) у полі зору. У глибоких шарах гіподерми наявні фіброласти перебували у фазі активної проліферації. У м'язовій тканині зберігалися окремі дрібні осередки некрозу, переважно у тварин «червоної» групи, і об'ємні вогнища фіброзу.

На 60-ту д. після локального опромінення і фототерапії МПУ або червоним, або синім світлом, поряд з повною епітелізацією, реєструвалася майже закінчена організація травмованої м'язової тканини. При цьому некротичні вогнища замішувалися зрілою фіброзною тканиною, що забарвлюється за Ван-Гізеном у червоний колір (рис. 8).

При цьому в даний період спостережень у глибоких шарах м'язових тканин, як правило, у м'язовому шарі, зберігалися ділянки молодої, сильно васкуляризованої грануляційної тканини.

Проте, незважаючи на повне рубцювання ран, у деяких тварин з «червоної» групи не завжди спостерігалася повна епітелізація виразкового дефекту, що, очевидно, було зумовлене порушенням як трофічних і проліферативних властивостей епідермісу, так і стромально-паренхіматозних зв'язків і припиненням репарації епітеліального пласта, що почалася.

Аналіз результатів морфологічного дослідження ПУШ при лікуванні червоним або синім світлом дозволив виявити деякі відмінності в їх дії.

У ранній період розвитку МПУ (7–14-та д.) фототерапія не справляла помітної лікувальної дії, проте створювала передумови для подальших репаративних процесів в осередку променевого ураження. Синє світло значно раніше стимулю-

вало локальну імунну відповідь на запалення, що виявлялося вже на 7-му д. При лікуванні синім світлом розміри поверхневого некрозу також зменшувалися більшою мірою, причому набагато раніше (вже на 21-шу д.), ніж у контрольній і «червоній» групі. Процеси організації некрозу глибоких шарів шкіри рухалися зі значним випередженням у «синій» групі, тоді як при лікуванні червоним світлом, поряд з організацією, в цих шарах ще довго зберігалися дрібні некрози і незріла грануляційна тканина.

Висновки

Таким чином, у результаті гістологічного дослідження можна дійти таких висновків:

1. У щурів з локальним променевим ураженням шкіри, які отримували фототерапію, вже на 30-ту добу практично завершувалася епітелізація і повна фібротизація всіх глибоких шарів рани, тоді як у контрольній групі епітелізація та часткова фібротизація променевої виразки наставала тільки на другий місяць спостережень.

2. При застосуванні синього світла ознаки активації фібрилогенезу і репарації в зоні променевого ушкодження спостерігалися ще до 30-ї доби.

3. Терапевтичний ефект синього світла домінував над червоним у зв'язку із більш ранньою стимуляцією клітинних та імунних реакцій у дермі.

Література

1. Бардычев М.С. // *Леч. врач.* – 2003. – № 5. – С. 76–79.
2. Wengstrom Y., Forsberg, C. Naslung I., Bergh J. // *Radiother. Oncol.* – 2004. – Vol. 72, № 2. – P. 191–197.
3. Monreal M., Munoz F.J., Rosa V. et al. // *Exp. Oncol.* – 2006. – Vol. 28, № 3. – P. 245–247.
4. Гуськова А.К. // *Клин. мед.* – 1986. – № 11. – С. 113–118.
5. Готовский Ю.В., Косарева Л.Б., Перов Ю.Ф. *Цветовая светотерапия.* – М.: ИМЕДИС, 2009. – 464 с.
6. Meffert B., Meffert H. // *Biomed. Tech.* – 2000. – Vol. 45, № 4. – P. 98–104.
7. Weiss R.A., McDaniel D.H.R., Geronemus R. et al. // *Lasers Surg. Med.* – 2005. – Vol. 36. – P. 85–91.
8. Саркисов Д.С. *Микроскопическая техника: Рук-во / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Петрова.* – М.: Медицина, 1991. – 544 с.
9. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.* Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 53 p.

Надходження до редакції 03.03.2011.

Прийнято 12.04.2011.

Адреса для листування:
Сімонова Лариса Іванівна,
ДУ Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва
НАМН України,
вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна