



3, 4 '2014

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ФОТОМЕДИЦИНА

Міжнародний науково-практичний журнал

Фотобиологія и Фотомедицина
Photobiology and Photomedicine

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

НАШІ ЮВІЛЯРИ



**Самойлова
Кіра Олександрівна**

Доктор медичних наук, професор.

Член наукового комітету Міжнародної
фототерапевтичної асоціації (IPTA),

Всесвітньої асоціації з лазерної терапії (WALT),
Міжнародної медичної лазерної асоціації (IMedLa),
Європейської медичної лазерної асоціації (EMLA),

член Президії Міжнародної академії
з лазерної медицини та хірургії (IALMS),

Член редакційних колегій журналу "Laser Therapy" (Японія)
та Міжнародного науково-практичного
журналу "Фотобіологія та Фотомедицина"
(Україна, Харків)

ISSN 2076-0612

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ
Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
V.N.Karazin Kharkiv National University

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ФОТОМЕДИЦИНА

Міжнародний науково-практичний журнал
т. XII, № 3, 4 '2014

Фотобиологія и Фотомедицина
Photobiology and Photomedicine

Заснований у 1998 році
Виходить 4 рази на рік

Передплатний індекс 49078

Міжнародний науково-практичний журнал «Фотобиологія та Фотомедицина»
є науковим виданням, публікації в якому визнаються при захисті дисертаційних
робіт з медичних, біологічних та технічних наук
(постанови Президії ВАК України від 10.02.2010 р. №1-05/1
та від 10.03.2010 р. №1-05/2)

Харків 2014

Затверджено до друку рішенням Вченої ради
Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна
(протокол № 7 від 27.06.2014 р.)

Головний редактор:

Коробов А.М.

Заступники головного редактора:

Бойко В.В., Брілля Г.Є. (Росія), Гамалія М.Ф., Таширев О.Б., Тондій Л.Д.

Відповідальні секретарі:

Русанов К.В., Утєвський А.Ю., Чухраєв М.В.

Члени редакційної колегії та редакційної ради:

Азаров О.Д., Ануфрік С.С. (Білорусь), Бабов К.Д., Бар'яхтар В.Г., Бобицький Я.В., **Божков А.І.** (д.б.н., ХНУ), Бондаренко Л.О., Бих А.І., Богомолець О.В., Васильєва-Лінецька Л.Я., Владимиров Ю.А. (Росія), Гладкова А.І., Григор'єва Т.Г., **Доля Г.М.** (д.т.н., ХНУ), Дубенко Є.Г., Дьомін О.О., **Жолткевич Г.М.** (д.т.н., ХНУ), Жуковський П.Г., Загускін С.Л. (Росія), Злепко С.М., Золотарьова Т.А., Іліч-Стоянович О. (Сербія), Кипенський А.В., Коваленко В.А., Кожем'яко В.П., Коробов В.А., Кузнєцов Є.Д. (Росія), Лисиченко М.Л., Лісна Т.О., Лобанов О.М., Лонго Л. (Італія), **Малєєв В.Я.** (д.б.н., ХНУ), Мінаєв В.П. (Росія), Мюллер Г. (Німеччина), **Ніколенко Є.Я.** (д.м.н., ХНУ), Ніколопоулос Н. (Греція), Оширо Т. (Японія), Павлов С.В., **Перський Є.Е.** (д.б.н., ХНУ), Петрук В.Г., **Попов М.М.** (д.м.н., ХНУ), Розуменко В.Д., Рочкінд С. (Ізраїль), Рубінов А.М. (Білорусь), Русанова Є.Г., Самосюк І.З., Самойлова К.О. (Росія), Сарвар Г. (Gulam Sarwar) (Пакистан), Сокол Є.І., Странацько Є.Ф. (Росія), Улащук В.С. (Білорусь), Хеншель Д. (США), Холін В.В., Ценьова Г.Я. (Росія), **Черваньов І.Г.** (д.т.н., ХНУ), Чумаков В.І., **Шкорбатов Ю.Г.** (д.б.н., ХНУ), **Яблчанський М.І.** (д.м.н., ХНУ), Якименко І.Л.

Спонсори видання:

Корпорація "Лазер і Здоров'я" (м. Харків)

ПМВП "Фотоніка плюс" (м. Черкаси)

ТОВ "НМЦ "Медінтех" (м. Київ)

Адреса редакції:

пл. Свободи, 6, м. Харків, 61022, Україна

Тел.: +38(067)731-14-31; тел./факс: +38(057)707-51-91

e-mail: amkorobov@i.ua; amkorobov@karazin.ua

Статті прорецензовано

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №15473-4045 ПР від 29.07.2009

ЗМІСТ

ЗМІСТ

РЕДАКЦІЙНІ СТАТТІ

НАШ ЮВІЛЯР – <i>Самойлова Кіра Олександрівна</i>	11
--	----

Самойлова К.О.

ЧИ МОЖЛИВА ЗНАЧНА НАУКОВА АКТИВНІСТЬ У ВІЦІ ВІД 70 ДО 80 РОКІВ? – ОПТИМІСТИЧНИЙ ПРОГНОЗ.....	12
---	----

КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

Журавльова Л.В., Федоров В.О., Коробов А.М.

ДОСВІД ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ: РАКУРС НА УРАЖЕННЯ ОПОРНО-РУХОВОГО АПАРАТУ.....	19
---	----

Садиков Р.Р.

ЛІКУВАННЯ СУДИННИХ АНОМАЛІЙ У ДІТЕЙ: РЕЗУЛЬТАТИ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ.....	24
--	----

Мелеховець Ю.В., Леонов В.В., Мелеховець О.К., Синяченко Ю.О.

ВИБІР ОПТИМАЛЬНОГО ЕНЕРГЕТИЧНОГО РЕЖИМУ ЕНДОВЕНОЗНОЇ ЛАЗЕРНОЇ КОАГУЛЯЦІЇ.....	30
--	----

Чухраєв М.В., Уніченко А. В., Владимиров А. О., Левковська В. І.

БАГАТОФАКТОРНИЙ ПІДХІД ДО ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ТРИВОЖНО-ДЕПРЕСИВНИХ РОЗЛАДІВ У ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ.....	35
---	----

Странадко Є. Ф.

КЛІНІЧНІ ТА СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ НОВОЇ МЕДИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ - ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ І НЕПУХЛИННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ.....	40
--	----

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФОТОМЕДИЦИНА

Байбеков І. М., Пулатов Д. Т.

ВПЛИВ СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ АПАРАТУ «БАРВА–ФЛЕКС/СІЧ» НА МОРФОЛОГІЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНИХ ВИРАЗОК В АСПЕКТІ ПРОФІЛАКТИКИ ЇХ ПРОРИВУ.....	49
---	----

Байбеков І.М., Хашимов Ф.Ф.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ НА ШКІРУ, МІКРОЦИРКУЛЯЦІЮ ТА ЕРИТРОЦИТИ ДІЇ ВИПРОМІНЮВАННЯ ЛАЗЕРІВ І СВІТЛОДІОДІВ ПРИ ЛІКУВАННІ ВУГРІВ.....	54
--	----

Бондаренко Л. О., Сотник Н. М., Козак В. А.

ЧИ МОЖНА РОЗГЛЯДАТИ СВІТЛО В ТЕМНУ ПОРУ ДОБИ ЯК СТРЕСОРНИЙ ФАКТОР?.....	60
--	----

Кузнєцов К.А., Пасюга В.М., Магда І.Ю., Казанський О.В., Іванченко Д.Д.,

<i>Колчигін М.М., Шкорбатов Ю.Г.</i> ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ УЛЬТРАШИРОКОСМУГОВОГО ІМПУЛЬСНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА СТАН ХРОМАТИНУ В КЛІТИНАХ ЛЮДИНИ.....	64
--	----

Посохов М.Ф., Чухраєв М.В., Горбунов О. В., Коробов А. М., Михайлов А. І.
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГЕНЕРАЦІЇ
ПЕРИФЕРИЧНОГО НЕРВА ПІД ВПЛИВОМ ЧЕРВОНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ
СВІТЛОДІОДІВ ТА ІМПУЛЬСНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ..... 71

*Куцевляк В. Ф., Пушкар Л. Ю. Северин Л.В., Велигоря І. Е., Войда Ю. В.,
Бірюкова С. В., Коробов А. М., Пономарьов Г. В.*
АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ
РІЗНИХ ФОТОСЕНСИБІЛІЗАТОРІВ (ДОСЛІДЖЕННЯ IN VITRO)..... 78

*Долинський Г.А., Самченко Ю.М., Пасмурцева Н.О. Полторацька Т.П., Ульберг З.Р.,
Кіслухіна М.О., Гамалія М.Ф.*
ФОТОБАКТЕРИЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ТЕРМОЧУТЛИВОГО ГІДРОГЕЛЕВОГО
НАНОКОМПЗИТУ З МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ..... 86

Радченко О.С., Степура Л.Г., Горбенко К.І., Гамалія М.Ф.
ОПОСЕРЕДКОВАНА МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ ФОТОДИНАМІЧНА ІНАКТИВАЦІЯ
МУЗЕЙНОГО ТА КЛІНІЧНОГО ШТАМІВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS..... 92

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

Заболотна Н.І., Павлов С.В.
ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ТА ФАЗОВОЇ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЇ
ТОМОГРАФІЇ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ МЕРЕЖ ПЛАЗМИ КРОВІ..... 101

*Чепурна О.М., Штонь І.О., Павлов С.В., Тужанський С.Є., Утрерас А., Войцехович В.С.,
Попов В.Д., Каптановський Є.В., Холін В.В., Гамалія М.Ф.*
ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ШЛЯХОМ ВИБІРКОВОГО
ЛАЗЕРНОГО СКАНУВАННЯ ПУХЛИНИ, ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ..... 107

*Ровіра Р.У., Тужанський С.Є., Савенков С.М., Павлов С.В.,
Чуніхіна О.І., Коломієць І.С., Клімов О.С.*
МЕТОД І ПОЛЯРИМЕТРИЧНА СИСТЕМА ЛОКАЛЬНОЇ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ
ПАТОЛОГІЙ АНІЗОТРОПНИХ БІОТКАНИН..... 113

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

Посохов М.Ф., Коробов А.М., Макаров В.М., Вороб'їєв В.В., Костюковська А.Є.
ЕФЕКТИВНЕ ЛІКУВАННЯ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО ВОГНИЩЕВОГО ПАТОЛОГІЧНОГО
ПРОЦЕСУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА ДОПОМОГОЮ ФОТОННОЇ МАТРИЦІ
КОРОБОВА-ПОСОХОВА «БАРВА-ЦНС/ПХ» (ВИПАДОК З ПРАКТИКИ)..... 123

Коробов А.М., Коробов В.А.
ДО ПИТАННЯ ЩОДО ДОКАЗОВОЇ БАЗИ ФОТОМЕДИЦИНИ..... 127

Реферати публікацій з фотомедицини та фотобіології..... 133

Інструкції для авторів..... 137

СОДЕРЖАНИЕ

РЕДАКЦИОННЫЕ СТАТЬИ

НАШ ЮБИЛЯР – *Самойлова Кира Александровна*..... 11

Самойлова К.А.

ВОЗМОЖНА ЛИ ЗНАЧИМАЯ НАУЧНАЯ АКТИВНОСТЬ В ВОЗРАСТЕ ОТ 70 ДО 80 ЛЕТ? –
ОПТИМИСТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ..... 12

КЛИНИЧЕСКАЯ ФОТОМЕДИЦИНА

Журавлева Л.В., Федоров В.А., Коробов А.М.

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА:
РАКУРС НА ПОРАЖЕНИЯ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА..... 19

Садыков Р.Р.

ЛЕЧЕНИЕ СОСУДИСТЫХ АНОМАЛИЙ У ДЕТЕЙ:
РЕЗУЛЬТАТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ..... 24

Мелеховец Ю.В., Леонов В.В., Мелеховец О.К., Синяченко Ю.О.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО РЕЖИМА
ЭНДОВЕНОЗНОЙ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ..... 30

Чухраев Н.В., Униченко А.В., Владимиров А.А., Левковская В.И.

МНОГОФАКТОРНЫЙ ПОДХОД В ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ У БОЛЬНЫХ
С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ..... 35

Странадко Е.Ф.

КЛИНИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ
НОВОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ - ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА
И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ..... 40

ФОТОБИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФОТОМЕДИЦИНА

Байбеков И.М., Пулатов Д.Т.

ВЛИЯНИЕ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ АППАРАТА «БАРВА–ФЛЕКС/СИК»
НА МОРФОЛОГИЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЯЗВ В АСПЕКТЕ ПРОФИЛАКТИКИ
ИХ ПРОБОДЕНИЯ..... 49

Байбеков И.М., Хашимов Ф.Ф.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НА КОЖУ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ
И ЭРИТРОЦИТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ ЛАЗЕРОВ И СВЕТОДИОДОВ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ УГРЕЙ..... 54

Бондаренко Л. А., Сотник Н. Н., Козак В. А.

МОЖНО ЛИ РАССМАТРИВАТЬ СВЕТ В ТЕМНОЕ ВРЕМЯ СУТОК
КАК СТРЕССОРНЫЙ ФАКТОР?..... 60

Кузнецов К.А., Пасюга В.Н., Магда И.Ю., Казанский О.В., Иванченко Д.Д.,

Колчигин Н.Н., Шкорбатов Ю.Г.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ УЛЬТРАШИРОКОПОЛОСНОГО
ИМПУЛЬСНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА..... 64

Посохов Н.Ф., Чухраев Н.В., Горбунов О.В., Коробов А.М., Михайлов А.И.
РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА ПОД ВЛИЯНИЕМ КРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
СВЕТОДИОДОВ И ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ..... 71

*Куцевляк В.Ф., Пушкарь Л.Ю., Северин Л.В., Велигоря И.Е., Войда Ю.В.,
Бирюкова С.В., Коробов А.М., Пономарев Г.В.*
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
(ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO)..... 78

*Долинский Г.А., Самченко Ю.М., Пасмурцева Н.А., Полторацкая Т.П., Ульберг З.Р.,
Кислухина М.А., Гамалея Н.Ф.*
ФОТОБАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО
НАНОКОМПОЗИТА С МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ..... 86

Радченко О.С., Степура Л.Г., Горбенко Е.И., Гамалея Н.Ф.
ОПОСРЕДОВАННАЯ МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ
МУЗЕЙНОГО И КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*..... 92

ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОТОБИОЛОГИИ И ФОТОМЕДИЦИНЫ

Заболотная Н.И., Павлов С.В.
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОРИЕНТАЦИОННОЙ И ФАЗОВОЙ МЮЛЛЕР-
МАТРИЧНОЙ ТОМОГРАФИИ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ СЕТЕЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ..... 101

*Чепурная О.Н., Штонь И.А., Павлов С.В., Тужанский С.Е., Утрерас А., Войцехович В.С.,
Попов В.Д., Каптановский Е.В., Холин В.В., Гамалея Н.Ф.*
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПУТЕМ
ИЗБИРАТЕЛЬНОГО СКАНИРОВАНИЯ ОПУХОЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ..... 107

*Ровира Р.У., Тужанский С.Е., Савенков С.Н., Павлов С.В.,
Чунихина Е.И., Коломиец И.С., Климов А.С.*
МЕТОД И ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ЛОКАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ
ПАТОЛОГИЙ АНИЗОТРОПНЫХ БИОТКАНЕЙ 113

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Посохов Н.Ф., Коробов А.М., Макаров В.Н., Воробьев В.В., Костюковская А.Е.
ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО ОЧАГОВОГО ПАТОЛОГИЧЕСКОГО
ПРОЦЕССА ГОЛОВНОГО МОЗГА С ПОМОЩЬЮ ФОТОННОЙ МАТРИЦЫ
КОРОБОВА – ПОСОХОВА «БАРВА-ЦНС/ПХ» (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)..... 123

Коробов А.М., Коробов В.А.
К ВОПРОСУ О ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ БАЗЕ ФОТОМЕДИЦИНЫ..... 127

Рефераты публикаций по фотомедицине и фотобиологии..... 133

Инструкции для авторов..... 137

CONTENTS

EDITORIALS

OUR HERO OF THE DAY - *Samoilova Kira Aleksandrovna*..... 11

Samoilova K. A.

WHETHER SIGNIFICANT SCIENTIFIC ACTIVITY IS POSSIBLE IN AGE FROM 70 TO 80? –
OPTIMISTIC FORECAST..... 12

CLINICAL PHOTOMEDICINE

Zhuravlyova L.V., Fedorov V.A., Korobov A.M.

AN EXPERIENCE TREATMENT OF CHRONIC DIABETES COMPLICATIONS:
FORESHORTENING ON THE LESIONS OF SUPPORT-MOVEMENT APPARATUS..... 19

Sadykov R.R.

CHILDREN VASCULAR ANOMALIES MANAGEMENT:
RESULTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY..... 24

Melekhovets Yu.V., Leonov V.V., Melekhovets O.K., Sinyachenko Yu.O.

ON THE ENDOVENOUS LASER COAGULATION OPTIMAL ENERGETIC REGIMENT..... 30

Chuhraev N. V., Unichenko A. V., Vladimirov A. A., Levkovskaya V. I.

A MULTIFACTORIAL APPROACH IN PSYCHO-PHYSIOLOGICAL CORRECTION OF ANXIETY
AND DEPRESSIVE DISORDERS IN PATIENTS WITH CHRONIC DISEASES..... 35

Stranadko E. F.

CLINICAL AND SOCIO-ECONOMIC ASPECTS OF THE USE OF NEW MEDICAL
TECHNOLOGY - PHOTODYNAMIC THERAPY OF CANCER
AND NON-NEOPLASTIC DISEASES..... 40

PHOTOBIOLOGY AND EXPERIMENTAL PHOTOMEDICINE

Baibekov I. M., Pulatov D. T.

EFFECT OF LED RADIATION APPARATUS «BARVA-FLEX/SIC»
ON THE MORPHOLOGY OF GASTRODUODENAL ULCERS
IN THE ASPECT OF PERFORATION PREVENTION..... 49

Baibekov I.M., Hashimov F.F.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE LASER AND LED RADIATION EFFECTS
ON THE SKIN, MICROCIRCULATION AND ERYTHROCYTES IN TREATMENT OF ACNE..... 54

Bondarenko L.A., Sotnik N.N., Kozak V.A.

WHETHER IT POSSIBLE TO CONSIDER LIGHT IN A NIGHT- TIME AS A STRESS FACTOR ?.... 60

*Kuznetsov K.A., Pasyuga V.N., Magda I.Yu., Kazanskiy O.V., Ivanchenko D.D.,
Kolchigin N.N., Shkorbatov Yu.G.*

EFFECT OF DIFFERENT REGIMES OF ULTRAWIDEBAND PULSE IRRADIATION
ON THE STATE OF CHROMATIN IN HUMAN CELLS..... 64

Posohov N. F., Chuhraev N. V., Gorbunov, O. V., Korobov A. M., Mikhailov A. I.

RESULTS OF EXPERIMENTAL AND MORPHOLOGICAL STUDIES ON REGENERATION
OF PERIPHERAL NERVE UNDER THE INFLUENCE OF THE RED LIGHT-EMITTING DIODE
RADIATION AND PULSED MAGNETIC FIELDS..... 71

<i>Kucevlyak V. F., Pushkar L. Y., Severin L. V., Veligorya I.E., Voyda Yu.V., Biryukova S. V., Korobov A. M., Ponomarev G. V.</i> ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHOTODYNAMIC THERAPY USING VARIOUS PHOTOSENSITIZERS (IN VITRO STUDY).....	78
--	----

<i>Dolynskiy G.A., Samchenko Yu.M., Pasmurtseva N.O., Poltoratska T.P., Ulberg Z.R., Kislukhina M.A., Gamaleia N.F.</i> PHOTOBACTERICIDAL PROPERTIES OF THERMOSENSITIVE HYDROGEL NANOCOMPOSITE WITH METHYLENE BLUE.....	86
---	----

<i>Radchenko O.S., Stepura L.G., Gorbenko K.I., Gamaleia N.F.</i> METHYLENE BLUE-MEDIATED PHOTODYNAMIC INACTIVATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS COLLECTION AND CLINICAL STRAINS.....	92
---	----

PHYSICS AND ENGINEERING IN PHOTOBIOLOGY AND PHOTOMEDICINE

<i>Zabolotna N.I., Pavlov S.V.</i> DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF MUELLER-MATRIX ORIENTATIONAL AND PHASE TOMOGRAPHY OF BLOOD PLASMA POLYCRYSTALLINE NETWORKS.....	101
---	-----

<i>Chepurna O.M., Shton I.O., Pavlov S.V., Tuznansky S.E., Utreras A., Voytsehovich V.S., Popov V.D., Kaptanovsky E.V., Holin V.V., Gamaleia N.F.</i> IMPROVING THE EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC THERAPY BY SELECTIVE TUMOR SCANNING, GUIDED BY TISSUE FLUORESCENCE.....	107
--	-----

<i>Rovira R.H., Tuzhanskyi S. Yu., Savenkov S.M., Pavlov S.V., Chuniyhina O.I., Kolomiets I.S., Klimov A.S.</i> METHOD AND POLARIMETRIC SYSTEM FOR LOCAL DIFFERENTIATION OF PATHOLOGIES IN ANISOTROPIC BIOTISSUE.....	113
---	-----

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Posokhov N.F., Korobov A.M., Makarov V.N., Vorobyov V.V., Kostiukovska G.Ye.</i> EFFECTIVE TREATMENT OF MULTIFOCAL LOCAL DISEASE PROCESS OF THE BRAIN WITH THE HELP OF PHOTONIC KOROBOV - POSOKHOV «BARVA-CNS / PCH» MATRIX (CASE STUDY).....	123
---	-----

<i>Korobov A.M., Korobov V.A.</i> ABOUT EVIDENTIAL BASIS OF PHOTOMEDICINE.....	127
---	-----

Summaries of articles on photomedicine and photobiology.....	133
--	-----

Instructions for authors.....	137
-------------------------------	-----



РЕДАКЦІЙНІ СТАТТІ

КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ



НАШ ЮБИЛЯР – САМОЙЛОВА КИРА АЛЕКСАНДРОВНА

Самойлова К.А.

**ВОЗМОЖНА ЛИ ЗНАЧИМАЯ НАУЧНАЯ АКТИВНОСТЬ
В ВОЗРАСТЕ ОТ 70 ДО 80 ЛЕТ? – ОПТИМИСТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ**

НАШ ЮБИЛЯР – САМОЙЛОВА КИРА АЛЕКСАНДРОВНА

Кира Александровна Самойлова родилась 11 декабря 1934 года в г. Ленинграде. В 1957 г. она с отличием окончила биолого-почвенный факультет Ленинградского Государственного Университета. Научной работой начала заниматься, будучи студенткой 2-го курса. Все годы учебы разрабатывала «менделистско-морганистскую» проблему: «Происхождение первичных половых клеток, закладка гонад и дифференцировка пола у рыб». После окончания учебы поступила в аспирантуру недавно открытого Института цитологии АН СССР. В 1964 г. защитила кандидатскую диссертацию, а в 1980 г. – докторскую на тему «Сравнительный анализ действия на клетки нефотосинтезирующих организмов УФ излучения различных областей спектра».

К.А. Самойлова – автор монографии «Действие УФ радиации на клетку» (Издательство «Наука», 1967), 14 обзоров по фотобиологии и фотомедицине и около 200 статей по результатам экспериментальных исследований, 3 авторских свидетельства.

С 1984 г. она возглавляет группу фотобиологии животной клетки. В 80-х годах, когда в Ленинграде проводилась разработка нового метода лечения, связанного с фотомодификацией крови пациента, коллектив фотобиологов Института цитологии АН СССР стал центром проводившихся исследований, вокруг которых объединились клиницисты города различных специальностей.

Как ответственный редактор К.А. Самойлова подготовила к выходу в свет в издательстве «На-

ука» 4 сборника научных трудов отечественных и зарубежных авторов: «Биологическое действие УФ облучения» (1976), «Проблемы практической фотобиологии» (1977), «Фотобиология животной клетки» (1979), «Механизмы влияния облученной УФ лучами крови на организм человека и животных» (1986). Кирой Александровной разработаны и утверждены Госагропромом СССР «Методические рекомендации «Применение УФ облучения крови в ветеринарии».

С 1967 г. К.А. Самойлова – приглашенный докладчик на Всесоюзных, Всероссийских и Международных конференциях и конгрессах по фотобиологии и фотомедицине. Количество сделанных ею докладов подсчитать трудно.

Кира Александровна ведет активную научно-педагогическую деятельность, под ее руководством защищено 15 кандидатских диссертаций.

К.А. Самойлова – член редколлегии журнала международной фототерапевтической ассоциации (ИРТА, Япония) “Laser Therapy” и научно-практического журнала «Фотобиология и фотомедицина» (Харьков, Украина), научного комитета международной фототерапевтической ассоциации (ИРТА, Япония), европейской медицинской лазерной ассоциации (EMLA), всемирной ассоциации по лазерной терапии (WALT), международной медицинской лазерной ассоциации (IMedLA), Президиума международной академии по лазерной медицине и хирургии (International Academy of Laser Medicine and Surgery- IALMS, Италия, Флоренция) и др.

ВОЗМОЖНА ЛИ ЗНАЧИМАЯ НАУЧНАЯ АКТИВНОСТЬ В ВОЗРАСТЕ ОТ 70 ДО 80 ЛЕТ? – ОПТИМИСТИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ

Самойлова К.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Мой личный опыт показывает, что в этот период жизни вы больше читаете и пишете, чем работаете руками. Их вам заменяют ваши ученики и молодое окружение – студенты и аспиранты. Вы обосновываете главное направление работы, планируете эксперименты и контролируете качество их выполнения, причем не только во время их проведения, когда важно воспроизведение всех деталей той или иной методики, но и при анализе результатов, когда залогом качества является повторяемость результатов. Анализ протоколов всегда занимал много времени в моей ежедневной работе, попутно приходилось осваивать новые методы статистической обработки.

После того, как осенью 1997 г. наш коллектив стал победителем Международного конкурса научных Проектов по исследованию механизмов лечебно-оздоровительного действия полихроматического видимого (ВИД) и инфракрасного (ИК) излучения, близкого к солнечному без его минорной компоненты – УФ лучей (всего 3% солнечной энергии на Земле), основным «полем» нашей активности становится полихроматическое ВИД + ИК излучение – важнейший фактор окружающей среды (97% общей энергии Солнца), который после разработки в Швейцарии генерирующего такое излучение фототерапевтического аппарата «Биоптрон» - оказывается востребованным медициной десятков стран, в том числе – России (с 1996 г.), Украины и Белоруссии. Очень быстро становится очевидным, что облучение небольшого участка поверхности тела (диаметром 5-20 см) способствует быстрому и гармоничному ранозаживлению, формированию противовоспалительного, иммуномодулирующего и анальгетического действия. Эффекты вызываются не только в облучаемой области, но и в отдаленных от нее тканях и органах, т.е. не только на местном, но и на системном уровне.

Несмотря на большое общебиологическое значение проблемы лечебно-оздоровительного действия ВИД + ИК излучения Солнца, его механизмы оставались неизученными. Такая ситуация сложилась вследствие того, что, начиная

с 60-70-х годов прошлого века, внимание врачей и биологов было сосредоточено на исследовании организменных и клеточно-молекулярных эффектов монохроматического и узкополосного ВИД и ИК излучения низкоэнергетических лазеров и светодиодов - в те годы принципиально новых технологий физической медицины.

Сейчас я не без удовольствия вспоминаю, с каким трепетом, страстью и азартом мы начинали наши исследования. Мы чувствовали себя первопроходцами, нас вдохновляла возможность пусть небольших, но важных для медицины «открытий». Должна признаться, что эти ощущения сохранились до сих пор. А вдруг мы еще что-то обнаружим и докажем?

Учитывая сравнительно глубокое проникновение ВИД и ИК излучения в кожу человека – на глубину 4-5 мм вплоть до густой сети кровеносных капилляров, мы предположили, что именно с действием на кровь в поверхностных отделах кожи и связаны «пусковые» механизмы системных, а возможно, и локальных эффектов ВИД + ИК света. То, что ВИД свет Солнца достигает до поверхностных кожных капилляров и «действует» на кровь, известно с конца 50-х годов, когда был разработан метод лечения ВИД (белым и синим) светом гипербилирубинемии новорожденных. А тот факт, что воздействие ВИД и ИК излучения только на кровь (на ее небольшие количества – экстракорпорально или внутривенно) приводит к развитию большого разнообразия лечебных эффектов, известно из обширной литературы по низкоинтенсивной лазерной и светодиодной терапии (Ганелина, Самойлова, 1986; Карандашов и др., 2001). Возможность транскутанного действия на кровь лазерного и светодиодного света иногда а priori допускалась в работах отечественных авторов, хотя доказательства этого феномена отсутствовали и в нашей, и в зарубежной литературе.

Наша доказательная база была выстроена благодаря следующему дизайну большинства наших экспериментов: облучали поверхность тела добровольцев ВИД + ИК светом (480 – 3400 нм) с

интенсивностью, характерной для летнего безоблачного дня в Центральной Европе (40 мВт/см²), в дозе терапевтического диапазона (9.6-12 Дж/см²). Параллельно с первым облучением поверхности тела, образец крови каждого человека облучали *in vitro* и, моделируя ситуацию *in vivo* (когда небольшое количество транскутанно фотомодифицированной крови смешивается в сосудистом русле с гораздо большим объемом интактной циркулирующей крови), в условиях *in vitro* смешивали 1 объем непосредственно облученной крови с 10-50 или 100 объемами необлученной аутологичной крови. Результаты каждого варианта опыта сопоставляли друг с другом с помощью методов корреляционного анализа. Выяснилось, что все изученные нами показатели состояния крови в условиях *in vivo* изменялись так же, как если бы вся кровь облучалась *in vitro*. Однако наибольшее сходство было выявлено между результатами транскутанного воздействия света на кровь и таковыми при смешивании облученной и необлученной аутологичной крови. Отсюда следовало, что вызванные светом изменения крови «транслируются» (передаются) всему объему циркулирующей аутологичной крови при их контакте в сосудистой сети. Хотя этот механизм лечебного действия ВИД + ИК света был выявлен в наших самых первых исследованиях, связанных с изучением реологических свойств крови и некоторых показателей клеточного иммунитета (Samoilova et al., 1998), в последующее десятилетие он был подтвержден многократно при исследованиях механизмов фотоиммунотуляции, противовоспалительного и ранозаживляющего действия ВИД + ИК излучения.

1. В 2002-2005 гг. наш аспирант Н.А. Жеваго, врач по образованию, доказала, что практически все иммунологические показатели изменяются в течение первого часа вплоть до 24 ч после облучения поверхности тела. Выявлены изменения функциональных свойств лейкоцитов периферической крови: активируются CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоциты, усиливается спонтанная и ФГА-индуцированная реакция бласттрансформации лимфоцитов, цитотоксичность НК-клеток, фагоцитоз моноцитов и нейтрофилов, продукция IgM и IgA и активатора клеточного звена иммунитета IFN- γ , снижается повышенное содержание провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-12) и циркулирующих иммунных комплексов; возрастает уровень противовоспалительных цитокинов (IL-10 и TGF- β 1).

Характер и величина изменений всех изученных показателей иммунитета определяется их исходными значениями (низкие и близкие к норме показатели возрастают, тогда как исходно повы-

шенные снижаются), что позволяет сделать вывод о иммуномодулирующем, а не иммуностимулирующем действии полихроматического света. Так, выяснилось, что концентрация в крови мощного эндогенного противовирусного и противоопухолевого фактора IFN- γ возрастает в несколько раз у тех лиц, у которых его содержание до воздействия света было снижено, тогда как при исходно повышенных значениях IFN- γ его уровень в крови быстро снижается. Наряду с цитокинами воспаления д-р Жеваго изучила содержание в крови некоторых ростовых факторов (TGF- β 1 и PDGF-AB).

Результаты этих работ были опубликованы в отечественных и зарубежных изданиях (Жеваго и др., 2005; Zhevago et al., 2004, 2006ab). Они стимулировали наш коллектив обратиться к изучению ростостимулирующих потенциалов крови, т.е. к объяснению одного из наиболее ярко выраженных клинических эффектов ВИД + ИК излучения – его ранозаживляющего действия.

2. В 2003-2010 гг. было доказано, что культивирование кератиноцитов, эндотелиоцитов и фибробластов человека в среде, содержащей 2.5% сыворотки или плазмы крови облученного ВИД + ИК светом человека (вместо 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота) стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток на 28-30%, а клеток соединительной ткани (фибробластов) – только на 20%. Это различие может составить механизм предотвращения в курсе фототерапии гиперпродукции клеток соединительной ткани, вследствие чего ускоренное ранозаживление происходит без образования гипертрофированных рубцов (Богачева и др., 2004; Samoilova K.A. et al., 2004).

Обоснование иммуномодулирующего, противовоспалительного и ранозаживляющего действия фототерапии ВИД + ИК излучением стимулировало разработку совместно с сотрудниками Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Вредена и спортивными медицинскими учреждениями Санкт-Петербурга Методических рекомендаций для врачей «Современные технологии фототерапии в спортивной медицине, восстановительной медицине и реабилитации» (Жирнов, Жеваго и др., 2006).

3. Учитывая важнейшую роль в процессах ранозаживления показателей микроциркуляции крови, в 2006-2008 гг. мы изучили динамику изменений скорости кровотока на локальном и системном уровне после облучения больных сахарным диабетом 2 типа и здоровых добровольцев. Выяснилось, что полихроматический свет практически немедленно усиливает микроциркуляцию местно и на системном уровне: достигая

максимума через 30-40 мин, эффект снижается, и на следующий день облучение следует повторить. Доказано, что феномен развивается вследствие фотоактивации фермента NO-синтазы в клетках эндотелия сосудов и тромбоцитах, вследствие чего повышается синтез и концентрация в периферической крови оксида азота (NO) – основного регулятора тонуса сосудов, играющего важную роль в передаче как межклеточных, так и внутриклеточных сигналов (Samoilova et al., 2008 ab).

4. В 2012 – 2014 гг. впервые был обнаружен антитромботический эффект полихроматического излучения (совместно с сотрудниками кафедры патологической физиологии Санкт-Петербургского государственного медуниверситета имени академика И.П. Павлова). Используя экспериментальную модель фотодинамического лазер-индуцированного тромбоза магистральной артерии крысы, доказали возможность профилактики необратимого тромбоза после прямого облучения бедренной артерии. Величина эффекта сопоставима с таковой у классического перорального лекарственного дезагреганта (ацетилсалициловая кислота, 0,02 мМ/кг, ежедневно в течение 7 сут). Очевидна высокая скорость развития эффекта – в течение 10 мин после однократного воздействия света (Samoilova et al., 2012). Доказано, что эффект развивается вследствие вызванной светом дезагрегации тромбоцитов, активации антисвертывающей системы крови и фибринолиза (готовится к публикации статья совместно с Российским НИИ гематологии и трансфузиологии). Данные литературы указывают на связь всех перечисленных эффектов света с повышением в крови концентрации оксида азота: наряду с другими важными функциями NO препятствует тромбозу сосудов.

5. С 2007 г. поступлением в аспирантуру Института цитологии Н.Н. Князева – талантливого клеточного биолога, владеющего многими современными технологиями исследований клетки, мы решили приступить к изучению вопроса онкологической безопасности полихроматического ВИД + ИК излучения. Следует заметить, что литературные данные о характере влияния ВИД и ИК излучения на пролиферацию опухолевых клеток в условиях *in vitro* и рост опухолей у лабораторных животных в условиях *in vivo* весьма противоречивы (Князев и др., 2010), что сдерживает использование современных фототерапевтических методов в широкой медицинской практике. В совместной работе со старшим научным сотрудником нашего Института к.б.н. Н.А. Филатовой, многие годы специализирующейся в области противоопухолевого иммуни-

тета, было установлено, что полихроматический ВИД и ИК свет замедляет рост злокачественной опухоли – гепатомы мышей МГ-22а как при воздействии на мышей-опухоленосителей (на ранней стадии роста опухоли), так и в случае прямого воздействия излучения на сами опухолевые клетки и их последующей трансплантации сингенным мышам СЗНА. С помощью проточной цитометрии доказали, что эффект торможения роста гепатомы не связан с повреждающим действием света на опухолевые клетки, т.е. ВИД + ИК излучение в использованных дозах не обладает ни цитотоксическим, ни цитостатическим действием. Было установлено также, что это излучение не оказывает на клетки гепатомы МГ-22а и стрессорного действия, так как ни в цитоплазме, ни на поверхности не повышается содержание белков теплового шока HSP-70. Используя конфокальный микроскоп, в прилегающей к плазматической мембране выявлены признаки реорганизации цитоскелета. Применяв метод прижизненной количественной оценки содержания на поверхности клеток МГ-22а гликопротеинов и кислых мукополисахаридов, установили, что их количество у облученных клеток снижается. После проведения электрофореза белков клеточного лизата и поверхностной мембраны с последующим иммуноблоттингом выяснили, что на поверхности облученных опухолевых клеток экспрессируется белок ламинин-1, который, как известно, распознается рецепторами естественных киллеров, что ведет к активации их цитолитической активности и гибели опухолевых клеток – мишеней. Таким образом, нам удалось выявить совершенно новый механизм противоопухолевого действия ВИД и ИК излучения, который ранее связывали с прямой фотоактивацией самих иммунокомпетентных клеток - естественных киллеров (Самойлова и др., 2010; Knyazev N.A et al., 2009; Князев и др., 2012; Филатова и др., 2013).

Работа по обоснованию онкологической безопасности ВИД + ИК была продолжена в работе нашего другого аспиранта – врача-физиотерапевта А.А. Зимина. Совместно с к.м.н. Н.А. Жеваго и онкологами Клинической больницы РАН 7-дневный курс облучений ВИД + ИК светом использовался в послеоперационной иммунореабилитации больных раком молочной железы (РМЖ) I-II стадии; параллельно тестировалась способность сыворотки крови облученных и необлученных пациенток поддерживать в условиях *in vitro* пролиферацию опухолевых клеток человека, в том числе трех линий РМЖ - BT-474, HBL-100 и Hs578T и эпидермальной карциномы - A431. Выяснилось, что в сыворотке крови облученных пациенток появляются факторы, которые подавляют пролиферацию всех опухолевых клеток, но стимулируют

пролиферацию нормальных клеток, участвующих в процессе ранозаживления – кератиноцитов и фибробластов (Зимин и др., 2010). Одновременно была обоснована целесообразность проведения фототерапии ВИД + ИК светом для коррекции показателей клеточного и гуморального иммунитета у пациенток с РМЖ и предотвращения послеоперационной иммуносупрессии (Жеваго и др., 2012). Работа поддержана персональным Грантом Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук и их научных руководителей (к.м.н. Н.А. Жеваго, проф. К.А. Самойлова).

В сотрудничестве с отделением новых технологий лучевой терапии ФГУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Минздрава России» показана целесообразность применения фототерапии

ближним ИК излучением для улучшения эффективности лучевого лечения больных раком предстательной железы: снижается частота поздних лучевых повреждений, а у больных местно-распространенным раком предстательной железы достоверно повышается 5-летняя выживаемость (Жаринов и др., 2010, 2011; Zharinov et al., 2010).

Приведенные выше исследования дополняют накапливающийся в международной науке опыт успешного и безопасного применения современных фототерапевтических методов в онкологии (см. обзор Зимин и др., 2009).

Пожалуй, это основное, что было сделано за последние 10 лет. Удастся ли еще что-то сделать? Планов предостаточно. Но будет ли возможность и успеха? Вспоминая название монографии американского фотобиолога Кендрика Смитта “Sun with us”, я отвечаю: «Солнце с нами, значит все будет хорошо!»

Литература

1. Samoiloва K.A., Obolenskaya K.D., Vologdina A.V., Snopov S.A., Shevchenko E.V. Single skin exposure to visible polarized light induces rapid modification of entire circulating blood. I. Improvement of rheologic and immune parameters // Proc. SPIE. - 1998. - Vol. 3569. - P. 90-103.
2. Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / Под ред. Ганелиной И.В. и Самойловой К.А. - Л.: Наука, 1986. - 264 с.
3. Карандашов В.И., Петухов Е.Б., Зродников В.С. Фототерапия (светолечение): Руководство для врачей / Под ред. Н.Р. Палеева – М. Медицина, 2001. – 392 с.
4. Жеваго Н.А., Самойлова К.А., Оболенская К.Д., Соколов Д.И. Изменение содержания цитокинов в периферической крови добровольцев после облучения полихроматическим видимым и инфракрасным светом // Цитология. - 2005. - Т.47, № 5 - С. 446-459.
5. Zhevago N.A., Samoiloва K.A., Obolenskaya K.D. 2004. The regulatory effect of polychromatic (visible and infrared) light on human humoral immunity. Photochem. Photobiol. Sci. 3(1): 102-108.
6. Zhevago N.A., Samoiloва K.A. Pro- and anti-inflammatory cytokine content in the peripheral blood after its transcutaneous (in vivo) and direct (in vitro) irradiation with polychromatic visible and infrared light // Photomedicine and Laser Surgery. – 2006a. - Vol. 24 (2). - P. 131-141.
7. Zhevago N.A., Samoiloва K.A., Calderhead R.G. Polychromatic Light Similar to the Terrestrial Solar Spectrum Without its UV Component Stimulates DNA Synthesis in Human Peripheral Blood Lymphocytes *in vivo* and *in vitro*. Photochemistry and Photobiology. – 2006b. 82(5): 1301-1308. и др
8. Богачева О.Н., Самойлова К.А., Жеваго Н.А., Оболенская К.Д., Блинова М.И., Калмыкова Н.В., Кузьминых Е.В. Повышение ростостимулирующей активности крови человека для фибробластов после ее облучения *in vivo* (транскутанно) и *in vitro* видимым и инфракрасным поляризованным светом // Цитология. - 2004. - Т.46, № 12. - С.159-171.
9. Samoiloва K.A., Bogacheva O.N., Obolenskaya K.D., Blinova M.I., Kalmykova N. V., Kuzminikh E.V. 2004. Enhancement of the blood growth promoting activity after exposure of volunteers to visible and infrared polarized light. I. Stimulation of human keratinocyte proliferation *in vitro*. Photochem Photobiol Sci. 3(1): 96-101.
10. Жирнов В.А., Жеваго Н.А., Гижа И.В., Данилова-Перлей В.И., Милорадова С.Н. Современные технологии фототерапии в спортивной медицине, восстановительной медицине и реабилитации. Методические рекомендации. // СПб, Комитет по здравоохранению Правительства СПб, 2006. - 40 с.
11. Samoiloва K., Zhevago N., Menshutina M., Grigorieva N. Role of nitric oxide in the visible light-induced fast increase of human skin microcirculation at the local and systemic level. I. Diabetic patients // Photomed Laser Surgery. – 2008a. – Vol. 26(5) – P. 433-442.
12. Samoiloва K., Zhevago N., Petrishchev N., Zimin A. Role of nitric oxide in the visible light-induced fast increase of human skin microcirculation at the local and systemic level. II. Healthy volunteers // Photomed Laser Surgery. – 2008b. – Vol. 26(5) – P. 443-449.
13. Samoiloва K. A., Vasina E. Yu., Vlasov T. D., Chefu S. G. Antithrombotic effect of polychromatic visible and infrared light in experimental model of thrombosis of main artery // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2012, Vol. 9, suppl.1, p. 25-26.
14. Князев Н. А., Самойлова К. А., Зимин А. А. Лазерное излучение видимого и ближнего инфракрасного диапазона при опухолевой патологии (анализ экспериментальных исследований). Физиотерапия, Бальнеология, Реабилитация. - 2010, №6. С. 50-56.
15. Самойлова К.А., Князев Н.А., Зимин А.А., Филатова Н.А., Галактионова А.А. Влияние низкоинтенсивного видимого и ближнего инфракрасного излучения на имплантированные опухоли лабораторных животных. Фотобиология и фотомедицина, 2010, №6: С.6-18.
16. Knyazev N.A., Samoiloва K.A., Filatova N.A., Galaktionova A.A. Effect of polychromatic light on proliferation of tumor cells under condition *in vitro* and *in*

vivo – after implantation to experimental animals. Proc. SPIE. – 2009. - Vol. 1142; 79-86.

17. Князев Н.А., Филатова Н. А., Самойлова К. А. Проллиферация и туморогенность клеток гепатомы мыши облученных полихроматическим видимым и инфракрасным светом. Цитология, 2012, №8, С.767-773.

18. Филатова Н.А., Князев Н. А., Кошеверова В. В., Шатрова А. Н. Самойлова К.А. Влияние облучения полихроматическим видимым и инфракрасным светом на туморогенность клеток мышинной гепатомы 22а и их чувствительность к лизису естественными киллерами, Цитология - 2013, Т. 55, №7. - С. 501-506.

19. Зимин А.А., Самойлова К.А., Жеваго Н. А. Проллиферация нормальных и опухолевых клеток в присутствии сыворотки крови больных раком молочной железы после курса фототерапии видимым и ближним инфракрасным светом, Цитология.- 2010. Т. 52, №9. – С. 785-791.

20. Жеваго Н. А., Самойлова К. А., Давыдова Н.И., Бычкова Н. В., Глазанова Т. В., Чубукина Ж.В., Буйнянова А. И., Зимин А. А. Эффективность полихроматического видимого и инфракрасного излучения в послеоперационной иммунореабилитации больных раком молочной железы. Вопросы физиотерапии, курортологии и лечебной физкультуры. 2012, №4, С.23-32.

21. Жаринов Г.М., Зимин А. А., Самойлова К. А., Некласова Н. Ю., Володина Л. А. Поздние лучевые повреждения мочевого пузыря и прямой кишки у больных раком предстательной железы после дистанционной лучевой терапии и низкоинтенсивной фототерапии ближним инфракрасным светом. Лазерная медицина. – 2010. Т. 14, № 3. – С. 4-8.

22. Жаринов Г. М., Зимин А. А., Самойлова К. А., Некласова Н. Ю. Выживаемость больных раком предстательной железы после дистанционной лучевой терапии и низкоинтенсивной фототерапии ближним инфракрасным светом. Вопросы онкологии, 2011, Т.57, №4, С.457-461.

23. Zharinov G.M., Zimin A.A., Samoilova K.A., Neklasova N.Yu., Volodina L.A., Ovsyannikov V.A. Late radiation lesions of urinary bladder and rectum in patients with prostate cancer after external radiation therapy and phototherapy with low power near infrared laser. Laser Therapy. - 2010. - Vol. 19(2). – P.89-95.

24. Зимин А.А., Жеваго Н.А., Буйнякова А.И., Самойлова К.А. Использование низкоинтенсивного видимого и ближнего инфракрасного излучения в клинической онкологии. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры, 2009, № 6: 49-52.

РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

● **КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА**

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ

Журавльова Л.В., Федоров В.О., Коробов А.М.

● **ДОСВІД ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ:
РАКУРС НА УРАЖЕННЯ ОПОРНО-РУХОВОГО АПАРАТУ**

Sadykov R.R.

● **CHILDREN VASCULAR ANOMALIES MANAGEMENT:
RESULTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY**

Мелеховець Ю.В., Леонов В.В., Мелеховець О.К., Синяченко Ю.О.

● **ВИБІР ОПТИМАЛЬНОГО ЕНЕРГЕТИЧНОГО РЕЖИМУ
ЕНДОВЕНОЗНОЇ ЛАЗЕРНОЇ КОАГУЛЯЦІЇ**

Чухраев Н.В., Владимиров А.А., Левковская В.И.

● **МНОГОФАКТОРНЫЙ ПОДХОД В ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ
ДОРСОПАТИЕЙ**

Странадко Е.Ф.

● **КЛИНИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ
НОВОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ - ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
РАКА И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

ДОСВІД ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ: РАКУРС НА УРАЖЕННЯ ОПОРНО-РУХОВОГО АПАРАТУ

Журавльова Л.В., Федоров В.О., *Коробов А.М.

Кафедра внутрішньої медицини №3
Харківського національного медичного університету,
пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022 Україна,
тел.: +38(057)705-01-70, e-mail: l.zhuravlyova@mail.ru;
*Лабораторія квантової біології та квантової медицини
Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна,
майдан Свободи, 6, м. Харків, 61022 Україна,
тел.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@i.ua

Проведено обстеження 48 хворих на цукровий діабет з ознаками уражень опорно-рухового апарату – діабетичними остеоартропатіями, серед яких найбільш поширеним був остеопороз. В комплексній терапії з метою лікування даних порушень у двох групах хворих були застосовані фототерапія (25 пацієнтів) або традиційні фізіотерапевтичні процедури (23 пацієнти). Після закінчення курсу лікування в обох групах хворих відмічена позитивна динаміка, але більш швидко і в більшій кількості випадків ці зміни спостерігались в групі пацієнтів, що приймали курс фототерапії. Показано, що використання фотонних матриць Коробова в комплексному лікуванні хворих на цукровий діабет з ознаками ураження опорно-рухового апарату є високоефективним, безпечним методом.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетичні остеоартропатії, фототерапія.

Цукровий діабет (ЦД), враховуючи його тривалий перебіг і системний, поліорганний характер уражень, є однією з найбільш значних медичних та соціально-економічних проблем сучасної медицини [2, 5, 6]. Серед наших пацієнтів переважають хворі на ЦД 2-го типу похилого віку, які мають схильність до захворювань опорно-рухового апарату [3, 7]. Специфічними проявами ЦД з боку кістково-суглобової системи є діабетичні остеоартропатії (ДАОП) - тендовагініти, долоневий апоневроз, синдром карпального каналу, контрактура Дюпюїтрена, остеопороз, синдром обмеження рухливості суглобів - Limited joint mobility. Доведено, що ЦД, особливо 2-го типу, супроводжується гіперкальціурією та ранніми трабекулярними втратами мінеральної щільності кісткової тканини, особливо в молодому віці [9, 10, 13]. Тому ДАОП розглядають як одну з важливих причин ранньої інвалідизації таких хворих [8, 11, 12].

До недавнього часу в літературі було описано дві конкуруючі теорії ДАОП. Згідно з однією з них, нейросудинною, процес остеоартропатії є трофічним розладом, який виникає внаслідок посилення кровотоку в кістковій тканині з надмірною неконтрольованою активізацією остеокластів. Нейротравматична теорія говорить, що відсутність захисної

чутливості сприяє неоптимальному навантаженню на кінцівку, у результаті чого виникають мікропереломи. Посилення шунтового кровотоку та ендотеліальна дисфункція при ЦД активують окремі цитокіни, які, у свою чергу, активують остеобласти. Ідентичний механізм остеолізу та руйнування кістки характерні для ревматоїдного артриту та для системних захворювань сполучної тканини.

У хворих на ЦД практично завжди є остеопороз; слід зазначити, що він найбільш виражений за наявності нейропатії. Патогенез остеопорозу пов'язують з інсулінопенією, мікроангіопатією. Характерно, що остеопороз поєднується з кальцифікацією судин, при чому тяжкість останньої посилюється з наростанням вираженості остеопорозу. Виявлено, що в процесі кальцифікації судин беруть участь прозапальні цитокіни та порушення кальцій-фосфорного гомеостазу [2].

За даними літератури, застосування фототерапії призводить до покращення метаболічних процесів і реологічних властивостей крові [1, 4].

Метою роботи була оцінка ефективності фототерапії із застосуванням світлодіодних матриць Коробова в комплексному лікуванні хворих на ЦД з ознаками ураження опорно-рухового апарату.

Матеріал і методи

В ендокринологічному та ревматологічному відділеннях Обласної клінічної лікарні – Центру екстреної медичної допомоги та медицини катастроф м. Харкова проведено обстеження 48 хворих на ЦД, з яких було 17 чоловіків та 31 жінка (22 хворих на ЦД 1-го типу та 26 – 2-го типу, середній вік $36,2 \pm 5,4$ роки.). Хворі з тривалістю основного захворювання від 7 до 25 років у стадії компенсації та субкомпенсації (рівень $HbA1c = 7,4 \pm 0,5\%$) мали патологію опорно-рухового апарату з переважним ураженням плечових та колінних суглобів. Найчастіше спостерігався остеопороз (у 28 хворих), який був діагностований рентгенологічно, у частини хворих - за допомогою денситометрії.

Всім хворим проводили рентгенологічне дослідження суглобів, реовазографію та інші інструментальні методи досліджень за показаннями. Комплексне обстеження хворих проводили при первинному надходженні до стаціонару і через 12-14 днів після початку лікування (термін перебування в стаціонарі). У зв'язку з виявленими змінами в комплексній терапії (інсулінотерапія або пероральні цукорознижуючі засоби, ангіопротектори, нестероїдні протизапальні засоби) з метою лікування ДООП була застосована фототерапія (1-а група – 25 хворих). 2-а група хворих (23 пацієнти) отримувала традиційні фізіотерапевтичні процедури (ультразвук, електрофорез). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Для лікування хворих 1-ї групи використовували фотонні матриці Коробова «Барва-Флекс». Їх особливістю є те, що вони гнучкі; це дозволяє матрицям повторювати форму тієї частини тіла людини, до якої вони прикладаються при контактному способі опромінення. Це забезпечує ефективну передачу випромінювання світлодіодів без втрат на відбиття на межі повітря - шкіра людини: практично всю енергію поглинають тканини організму.

Базовий варіант матриці «Барва-Флекс» містить 24 світлодіоди, що розташовані еквідистантно в 4 ряди по 6 світлодіодів в кожному. Спеціальні матриці мають розташування світлодіодів 3×8 (для опромінення протяжних ділянок) і 2×12 (для опромінення хребта і паравертебральних зон). Потужність випромінювання кожного світлодіода – 2-5 мВт.

Щоб оптимізувати роботу організму в цілому, потрібно нормалізувати реологічні показники крові та оптимізувати роботу регуляторних систем організму (імунної, ендокринної, центральної нервової). Для цього фотонну матрицю «Барва-Флекс» з оптимальним для конкретного пацієнта спектральним складом випромінювання (гостра

або хронічна фаза захворювання) встановлювали спільно з магнітною матрицею «Барва-Флекс/Маг» послідовно на праву і ліву тильні поверхні кистей (зона 1), праву і ліву долоні (зона 2), праву і ліву лучезап'ястні зони (зона 3), праву і ліву кубітальні вени (зона 4), верхні поверхні стоп (зона 5), проекцію виделкової залози (зона 6), печінки (зона 7) і селезінки (зона 8). Тривалість дії складала по 3-5 хвилин на кожен зону.

Надалі світловий вплив здійснюється на проекцію підшлункової залози з метою поліпшення мікроциркуляції крові та лімфи, що забезпечує зняття запальних процесів, набряку, болю, прискорює регенерацію тканини, а також позитивно впливає на регуляцію рівня глюкози.

Після цього матрицю «Барва-Флекс/СІЧ (сині та інфрачервоні світлодіоди) накладали на уражені суглоби та проводили опромінювання суглобів протягом 30 хвилин. Курс - 10 процедур.

При обстеженні хворих згідно протоколів МОЗ (наказ №574 від 05.08.2009, № 418 від 01.12.2012) вивчали стан білкового спектру сироватки крові, вуглеводний обмін з визначенням глікемічного (глюкозооксидантний метод) та глюкозуричного профілей, рівня глікозильованого гемоглобіну ($HbA1c$ - калориметричним методом), в окремих хворих-імунореактивного інсуліну (імунофлюоресцентний метод); визначали біоелементний баланс (калориметричний метод) - вміст калію (К), кальцію (Са), магнію (Мg), фосфору (Р).

Крім цього, вивчали активність лужної фосфатази (ЛФ) кінетичним методом, рівень серомукоїдів (СМ) - орциновим методом, сіалових кислот (СК) - калориметричним резорциновим методом та загальних хондроїтінсульфатів сироватки крові.

Результати та обговорення

Головні клінічні прояви захворювання при надходженні до стаціонару наведені у табл. 1. Рівень болю оцінювали за візуально-аналоговою шкалою (ВАШ). Перед початком лікування показник оцінки сприйняття болю пацієнтом за 100 мм ВАШ був 51,8.

Після закінчення курсу лікування відмічена позитивна динаміка цих проявів в обох групах хворих (табл. 2). Але вона була яскравіше вираженою у 1-й групі, де здійснювався курс фототерапії: тут у більшій кількості хворих зменшився больовий синдром в суглобах, зникли осалгії, зріс обсяг рухів, значно знизилась припухлість над суглобами і поліпшилась їх функція.

Показник болю за оцінкою по ВАШ також більш значно знизився в 1-й групі хворих, що свідчить про виражений позитивний вплив фототерапії на больовий синдром.

Таблиця 1

Основні клінічні прояви ДОАП у 48 хворих, які перебували під спостереженням

№	Клінічні прояви	Кількість хворих	%
1	Біль	48	100
2	Обмеження рухів	42	87,5
3	Припухлість над суглобами	26	54,2
4	Деформація суглобів	17	35,4
5	Осалгії	11	22,9

Таблиця 2

Порівняльна оцінка ефективності лікування у двох групах хворих

	Показники	Фототерапія (1-а група, n=25)	Традиційна фізіотерапія (2-а група, n=23)
1	Зменшення больового синдрому	18	12
2	Збільшення об'єму рухів	17	10
3	Осалгії	11	7
4	Припухлість над суглобами	15	10
5	Деформація суглобів	0	0
6	Зменшення показника болю за ВАШ, %	26	15

Таблиця 3

Біохімічні показники в динаміці лікування (M±m)

№	Показники	Контроль	До лікування	Фототерапія через 2 тижні	Традиційні фізіопроцедури через 2 тижні
1	Кальцій сироватки крові, ммоль/л	2,46±0,2	2,28±0,17*	2,39±0,09	2,33±0,07
2	Кальцій сечі, ммоль/л	3,47±0,16	6,3±0,18*	5,15±0,13	5,6±0,18
3	Магній сироватки, ммоль/л	1,15±0,15	0,9±0,09	1,1±0,09	1,1±0,05
4	Фосфор сироватки, ммоль/л	0,93±0,07	0,89±0,04*	1,08±0,04	1,04±0,02
5	ЛФ, ОД	1,2±0,08	1,14±0,06	1,18±0,08	1,19±0,06
6	Серомукоїди, ОД	166,3±10,6	200,4±8,2*	180,2±9,7	186,4±6,8
7	Сіалові кислоти, ОД	170,8±10,2	210,7±8,6*	188,4±10,3	192,6±13,7
8	Загальні хондроїтінсульфати, г/л	0±0,1	0,28±0,04*	0,2±0,03	0,24±0,02

Примітка * - $P < 0,05$ – ймовірно в порівнянні з ідентичними показниками у групі контролю

При проведенні біохімічних досліджень у хворих на ЦД до курсу лікування спостерігалось підвищення рівня СМ і СК у сироватці крові. При визначенні біоелементного балансу було виявлено зниження вмісту фосфору сироватки крові та гіперкальціурія, які були більш виражені у хворих, які довгостроково страждають на ДОАП, а також - у хворих на ЦД в стадії субкомпенсації. Серед показників метаболізму сполучної тканини у хворих відзначалося достовірне підвищення вмісту загальних хондроїтінсульфатів, що швидше за все свідчило про виражений деструктивний процес в хрящовій тканині (табл. 3).

Ці зміни, ймовірно, обумовлені порушенням метаболічних процесів і негативно позначається на стані кісткової матриці. У свою чергу, іноді спостерігається порушення процесів реабсорбції Са і Р в ниркових каналцях (наявність гіперкальціурії), і відповідно, - поява негативного балансу Са, Р, іноді Mg в організмі.

Отримані результати досліджень свідчать про порушення фосфорно-кальцієвого обміну у хворих ДОАП, і тим самим обґрунтовують необхідність корекції виявлених порушень.

Після закінчення курсу лікування в стаціо-

нарі в біохімічних показниках сироватки крові (СК та СМ) відмічена позитивна динаміка в обох групах, але більш виражені зміни були у хворих, які отримували фототерапію. Для повної нормалізації цих показників, на нашу думку, потрібен більш тривалий термін.

При визначенні біоелементного балансу після закінчення лікування спостерігалось підвищення вмісту фосфору сироватки крові (до 1,08±0,04 ммоль/л в 1-й групі, до 9,3±0,05 ммоль/л в 2-й) і зменшення гіперкальціурії (до 5,1±0,03 ммоль/л в 1-й групі, до 5,2±0,04 ммоль/л в 2-й групі).

Останнім часом широко стали звертати увагу на побічні ефекти після проведеного лікування, щоб не порушувати головний принцип: «не нашкодь». В результаті наших спостережень необхідно відзначити хорошу переносимість фототерапії. У жодного хворого ніяких побічних реакцій не було.

Висновки

Фототерапія з використанням фотонних (світлодіодних) матриць Коробова в комплексно-му лікуванні хворих на ЦД з ознаками ураження опорно-рухового апарату є високоефективним та безпечним методом.

Литература

1. Журавлева Л.В. Досвід застосування фототерапії при лікуванні ускладнень цукрового діабету / Л.В.Журавлева, В.О.Федоров, Н.К.Александрова та ін. // Матеріали XXXXII Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии». – Яремча, 2014. – С.24-25.
2. Журавлева Л.В. Застосування хондропротекторної терапії при лікуванні діабетичних остеоартропатій / Л.В.Журавлева, В.О.Федоров, М.О.Олійник та ін. // Експериментальна і клінічна медицина. – 2012. – №4. – С.74-78.
3. Коваленко В.М. Ревматичні захворювання в Україні: стан проблеми та шляхи вирішення // Український ревматологічний журнал. – 2012. – №3. – С.84-86.
4. Коробов А.М. Фотонные матрицы Коробова для лечения и профилактики синдрома диабетической стопы / А.М.Коробов, В.А.Коробов, О.М.Бойкачева // Фотобиология та фотомедицина. – 2011. – №1. – С.128-129.
5. Національний підручник з ревматології / За ред. В.М.Коваленка, Н.М.Шуби. – Київ: Моріон, 2013. – 672 с.
6. Ульянова И.Н. Диабетическая остеоартропатия: современные методы терапии / И.Н.Ульянова, А.Ю.Токмакова, М.В.Ярославцева // Сахарный диабет. – 2010. – №4. – С.70-73.
7. Шуба Н.М. Нові аспекти патогенезу остеоартрозу та шляхи корекції / Н.М.Шуба, Т.Д.Воронова, Т.М.Тарасенко, А.С.Крилова // Український ревматологічний журнал. – 2012. – №1. – С.51-58.
8. Baker N. Microvascular and C-fiber function in diabetic Charcot neuroarthropathy and diabetic peripheral neuropathy / N.Baker, A.Green, S.Krishnan, G.Rayman // Diabetes Care. – 2007. – Vol.30, №12. – P.3077-3079.
9. Berenbaum F. Diabetes-induced osteoarthritis: from a new paradigm to a new phenotype // Ann. Rheum. Dis. – 2011. – Vol.70. – P.1354-1356.
10. Castañeda S. Osteoarthritis: a progressive disease with changing phenotypes / S.Castañeda, J.A.Roman-Blas, R.Largo et al. // Rheumatology (Oxford). – 2014. – Vol.53, №1. – P.1-3.
11. Mabileau G. Increased osteoblastic activity in acute Charcot's osteoarthropathy: the role of receptor activator of nuclear factor - kappa B ligand / G.Mabileau, N.L.Petrova, M.E.Edmonds, A.Sabokbar // Diabetologia. – 2008. – Vol.51, №6. – P.1035-1040.
12. Rahman M. Risk of type 2 diabetes among osteoarthritis patients in a prospective longitudinal study / M.Rahman, J.Cibere, A.Anis et al. // Int. J. of Rheumatology. – 2014. – Article ID 620920, 7 pages, 2014, doi:10.1155/2014/620920.
13. Van Sloten T.T. Peripheral neuropathy, decreased muscle strength and obesity are strongly associated with walking in persons with type 2 diabetes without manifest mobility limitations / T.T. van Sloten, H.H.Savelberg, I.G.Duimel-Peters et al. // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2011. – Vol.91. – P.32–39.

**ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА:
РАКУРС НА ПОРАЖЕНИЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА**

Журавлева Л.В., Федоров В.А., Коробов А.М.

*Кафедра внутренней медицины №3 Харьковского национального медицинского университета,
пр. Ленина, 4, г. Харьков, 61022 Украина,
тел.: +38(057)705-01-70, e-mail: l.zhuravlyova@mail.ru;
*Лаборатория квантовой биологии и квантовой медицины
Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина,
площадь Свободы, 6, г. Харьков, 61022 Украина,
тел.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@i.ua*

Проведено обследование 48 больных сахарным диабетом с признаками поражения опорно-двигательного аппарата – диабетическими остеоартропатиями, среди которых наиболее распространенным был остеопороз. В комплексной терапии с целью лечения данных нарушений у двух групп больных была применена фототерапия (25 больных) или традиционные физиотерапевтические процедуры (23 пациента). После окончания курса лечения в обеих группах больных отмечена положительная динамика, но более быстро и в большем количестве случаев эти изменения наблюдались в группе пациентов, принимавших курс фототерапии. Показано, что использование фотонных матриц Коробова в комплексном лечении больных сахарным диабетом с признаками поражения опорно-двигательного аппарата является высокоэффективным, безопасным методом и способствует сокращению сроков лечения.

Ключевые слова: *сахарный диабет, диабетические остеоартропатии, фототерапия*

***AN EXPERIENCE TREATMENT OF CHRONIC DIABETES COMPLICATIONS:
FORESHORTENING ON THE LESIONS OF SUPPORT-MOVEMENT APPARATUS***

Zhuravlyova L., Fedorov V., Korobov A.

Department of Internal medicine №3 of Kharkiv National Medical University,

Lenin Ave., 4, Kharkiv, 61022 Ukraine,

tel.: +38 (057) 705-01-70, e-mail: l.zhuravlyova@mail.ru;

**Laboratory of Quantum Biology and Quantum Medicine*

of Kharkiv National University named by V.N.Karazin,

Svobody Sq., 6, Kharkiv, 61022 Ukraine,

tel.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@i.ua

The study involved 48 patients with diabetes with evidence of lesions of the musculo-skeletal system - diabetic osteoarthropathy, among which the most common was osteoporosis. In complex therapy for the treatment of these disorders two groups of patients has been applied phototherapy (25 patients) or traditional physiotherapy (23 patients). After treatment noted positive dynamics in both groups, but most quickly and in more cases, these changes were in the group of patients treated with a course of phototherapy. It is proved that the use of photonic matrix of Korobov in the complex treatment of patients with diabetes with evidence of lesions of the musculo-skeletal system is highly effective, safe method and reduces the duration of treatment.

Keywords: *diabetes mellitus, diabetic osteoarthropathy, phototherapy*

УДК: 616-006:311.03:616.31:617-089.

CHILDREN VASCULAR ANOMALIES MANAGEMENT: RESULTS OF PHOTODYNAMIC THERAPY

Sadykov R.R.

Tashkent Medical Academy, Surgery Department,
M.Rieziy 31/49 Post 100007 Tashkent, Uzbekistan
Tel.: +998909594365
e-mail: srrdكتور@yahoo.com

This study reports about the role of photodynamic therapy in management of children vascular anomalies. A 3-year (2009-2012) retrospective study on the challenges and outcome of 245 children with vascular anomalies referred for surgical management was undertaken at the Tashkent Medical Academy, Uzbekistan. After multidisciplinary discussion, all patients underwent photodynamic therapy under general anesthesia, with 5-ALA as the photosensitising agent. In a time of treatment 85 out 108 patients who presented with long-term pain reported improvement after treatment. Also, 43/46 reported significant reduction of bleeding related to their vascular anomaly. Improvement of swelling was reported by 189/199 patients; while reduction of infection episodes was evident in 61/63 patients and 176/205 reported reduction in the disfigurement caused by their pathology. Clinical assessment showed that more than half of the patients had good response to the treatment. Significant clinical response was reported by 148 (60,4%) patients, moderate result by 70 (28,6%). Radiological and ultrasound assessment comparing imaging 6-week post-PDT to the baseline showed moderate response in 78 (31,8%) patients and significant response in 122 (49,8%) patients.

Keywords: haemangioma, congenital and infantile, malformations, children, laser, surgery.

Introduction

Vascular anomalies are congenital anomalies of vascular development causing a variable degree of soft tissue abnormalities. These anomalies tend to occur most commonly in the head and neck and affect approximately 1 in 22 children. The most recent classification of vascular anomalies ISSVA includes two main categories: vascular tumours and vascular malformations [14,15]. Vascular tumours include infantile type and congenital type haemangiomas; the former being the most common vascular tumour as well as vascular anomaly. Other types include pyogenic granuloma, tufted angiomas and haemangiopericytomas, angiosarcomas [3].

Vascular malformations, involve a variety of aberrations including: venous, arteriovenous, capillary and lymphatic. Slow-flow ones include capillary, venous and lymphatic; while, arteriovenous malformations are fast-flow. Vascular malformations differ, from vascular tumours, by having progressively enlarging aberrant and ecstatic vessels composed of a particular vascular architecture and do not contain hyperplastic cells [10].

Haemangiomas are more common in females and 80% occur in the head and neck. Haemangiomas, usually present as isolated, multifocal or segmental, result from endothelial cell hyperplasia. Infantile haemangioma develop shortly after birth and follow the expected course of proliferation and prolonged

involution. They are one of the most vascular tumours. The rarer congenital haemangioma do not follow the same growth pattern but it does present at birth as the result of endothelial cell hyperplasia; and may rapidly involute or never involute. The cause of the aberrant and focal proliferation of endothelial cells in these lesions remains unclear [5,6].

Venous malformations are usually slow-flow vascular malformations composed of ecstatic venous channels that continue to grow throughout the patient's life. They commonly occur in the head and neck area, with a predilection for the oral cavity, airway and muscle groups. These lesions have unpredicted growth behavior when it comes to how much growth will occur or where; and many lesions expand well beyond their initial clinical boundaries and actual invasion of surrounding tissue may be occurring [13]. These lesions are frequently symptomatic, depending on the locations involved and are usually obvious at birth. They fill with dependency and are compressible with variable color depending on the depth of involvement. Symptoms can be related to clot formation either from trauma or venous stasis and patients usually present with pain and swelling [2].

Lymphatic malformations are slow-flow congenital collections of ecstatic lymph vessels that form endothelial lined cystic spaces. They can be classified into macrocystic (containing cysts ≥ 2 cm) or microcystic

(<2 cm); the former carries a better prognosis. Usually diagnosed on prenatal ultrasound and may require special preparations for delivery if suspecting airway compromise. Lesions in the head and neck can be focal, multifocal, diffuse, macrocystic or microcystic; with frequent involvement of the oral cavity and airway [16]. If not identified prenatally, diagnosis is made during childhood with a slow growing lesion which may rapidly swell during infection or with hormonal changes. Clinical presentation include pain, swelling, dysphagia, odynophagia, airway and speech problems and recurrent infections. The lesions are fluid filled and are non-compressible [1].

Arteriovenous malformations are fast-flow vascular malformations consisting of abnormal capillary beds shunting blood from the arterial system directly into the venous system resulting in a high-flow vascular abnormality [10]. They grow throughout the patient's life and are associated with frequent and aggressive growth spurts. They are commonly identified in the lips, cheeks, neck, scalp, ear, tongue and mandible, extending to involve multiple cervico-facial regions. They clinically present with various symptoms, sug-

its use in the treatment of benign neoplasmas [4].

The effects of PDT are a result of the interaction between a photosensitiser, oxygen and light. PDT may be provided under local, regional or general anaesthesia and it may be delivered by surface illumination or interstitial application, via inserted optical fibres. The photosensitiser, administered whether locally or systemically, is selectively taken up and retained by tissues with a high vascular flow rate [17,21]. Activation by light of a specific wavelength results in the production of oxygen free radicals or singlet oxygen which leads to apoptosis and/or direct cell death, as well as vascular shut down and subsequent inflammatory/immunological response [17].

Traditionally, light is delivered to the target tissue by surface illumination, whereby a optic probe is held over the target tissue (distance 5 cm). It can penetrate up to a depth of 1 cm, when used with 5-ALA due to its wavelength and not properties of the photosensitiser. Interstitial PDT followed by the insertion of thin optical fibres into the needles, to allow light maximal tissue illumination [8]. The application of interstitial PDT, in combination with preoperative imaging, including

Table 1

Fitzpatrick skin classification

Type	Color	Reaction to sun exposure
I	White	Always burns / never tans
II	White	Usually burns / tans with difficulty
III	White	Sometimes mildburn / average tan
IV	Moderate brown	Rarely burns / tans with ease
V	Dark brown	Very rarely burns / tans very easily
VI	Black	Never burns / tans very easily

gesting a spectrum of disease and not only one disease process [12,19].

The various therapeutic options are available for vascular anomalies as well as the recent advances in psychosocial aspects of care, interventional radiology, laser and pharmacological therapy [7,22].

Important to choose the method of treatment depending on skin types (T.B.Fitzpatrick, 1975) – see Tabl. 1. Because Asian people had brown color of skin, this skin type satisfy III-IV by Fitzpatrick classification scale. All surgical treatment access complicate with the scars, wich mostly visible in dark skin. Laser access can complicate with depigmentation or hyperpigmentation. Hyperpigmentation aspect binded with high ultraviolet insolation of Uzbekistan region. [8]

Photodynamic therapy (PDT) is a developing technology, used in the treatment of advanced tumours. The main application for PDT is to target tumours of the head and neck, gastrointestinal tract, pulmonary malignancies and skin pathologies. One advantageous feature of PDT is that it does not cause damage to nerves (cold photochemical reaction); this has lead to

computer tomography, magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound (US) images has been shown to improve the accuracy of the technique [9].

In this study we present the outcome following the management of vascular anomalies using PDT. Patients' reports on quality of life with clinical and radiological evaluation were the main parameters used to assess the outcome.

Material and methods

In this clinical study, 245 patients were referred between 2009 and 2012 to the General and Maxilla-facial Surgery Department, Tashkent Medical Academy (Uzbekistan) for treatment of vascular anomalies. Demographics of these patients are characterized by the following quantities.

Gender: male - 54 patients (22%); female – 191 (78%).

Age (years): mean – 1.2; minimum–maximum – 0.1-3.4; stand. deviation – 0.4.

Race and type of skin by Fitzpatrick scale: Central Asian - 220 patients (89.8%), among them

I type – 8 (3.6%), II – 26 (11.8%), III – 80 (36.3%), IV – 68 (30.9), V – 38 (17.2%). European – 19 patients (7.7%), among them I type – 5 (26.5%), II – 14 (73.6%). Different with VI type – 6 patients (2.4%).

Primary site position are: oral cavity - 25 patients (10.2%); upper face - 37 (15.1%); middle face - 62 (25.3%); lower face - 46 (18.8%); neck - 38 (15.5%); thorax, abdomen - 13 (5.3%); upper extremity - 18 (7.3%); lower extremity - 6 (2.4%).

Vascular tumours included: infantile haemangioma - 74 patients (30.2%); congenital haemangioma - 6 (2.4%).

Vascular malformations included: venous malformation - 46 patients (18.8%); lymphatic malformation - 57 (23.3%); arteriovenous malformation - 62 (25.3%).

Disease staging: local (localised) - 35 patients (14.3%); regional (extended) - 210 (85.7%).

Presentations: disfigurement - 205 patients (83.7%); swelling - 199 (81.2%); pain - 108 (44.1%); infection - 63 (25.7%); breathing problems - 5 (2.0%); bleeding - 46 (18.8%).

Previous management included: surgery - 78 patients (31.8%); embolisation - 8 (3.3%); sclerotherapy - 46 (18.8%); alcohol therapy - 28 (11.4%); CO₂ laser - 68 (27.7%); adjuvant chemoradiotherapy - 11 (4.5%); none - 6 (2.4%).

The patients' symptom-related disease included pain, bleeding, swelling, infection, disfigurement, breathing problems. One hundred eight patients observed with chronic/recurrent pain which was associated with local pressure of the anomaly on nearby nerves. 46 patients observed bleeding which was mostly associated with trauma to their haemangiomas and arteriovenous malformations. Swelling problems were reported in 199 patients, while disfigurement was reported in 205 patients. Recurrent infection was identified in 63 patients, mostly in patients with lymphatic malformations. Breathing difficulties was associated with pathological growth in the nasal region in 5 patients.

The anomaly volume was assessed using preoperative imaging (MRI, US).

Further conventional treatment rejected by 165 patients (67.3%); further treatment not offered to 80 (32.7%).

78 patients refused further conventional therapy (i.e. surgery) and elected to receive PDT, while 80 patients were not offered further conventional treatment and elected to receive PDT; the other 87 patients chose to undergo PDT.

All patients were discussed at a multidisciplinary meeting involving surgeons, radiation and medical oncologists, interventional clinical radiologists and allied healthcare professionals. It was agreed to offer PDT under general anesthesia, using 5-ALA (alaseps) as the photosensitising agent. Photosensitizer

doses were 200 mg/kg intravenous for malformation, 500 mg as 20% ointment was administered on skin surface, or 3% solution inject into vascular anomaly 6 hours (min 6, max 24) prior to light treatment. Irradiation was carried out at a energy fluence of 10–20 J/cm² and a standardised fluence rate (power density) of 100 mW/cm². This would allow the agent to accumulate in the pathological area which would increase effectivity. Patients were usually kept in a side room (with a dim light) to avoid systemic photosensitisation. Intraoperatively, an US probe was used to examine the centre and periphery of the anomaly when assessing volume, depth, invasion of large vessels, hollow organs and/or hard tissue. This was followed by insertion 18 Gauge 70 mm long spinal needles under US-guidance into the target tissue. Great care was taken to ensure that the needles are inserted parallel to each other with 7–9 mm distance in between. If the treatment was close to a major blood vessel, a safety distance of 1 cm between the needle and the vessel was implemented.

An Iso-illumination treatment plan was carefully implemented and supervised by a senior physicist to ensure adequate light delivery to all suspect areas. A 635 nm wave-length diode laser was used for illumination. Diffuser fibres were used with/out bare polished tip fibres, with a core diameter of 400 µm, to deliver light. Light energy was then delivered from the fibres to the target tissue at 20 J per site. Tissues outside the target area were shielded completely to avoid photoactivation by scattered or reflected light.

All precautions were taken to avoid direct illumination of the patient with surgical lamps in theatres. Unplanned or emergency surgical interventions within 30 days from the photosensitiser administration were undertaken only if absolutely necessary and the potential benefits outweigh the risk to the patient. Precautions were applied to avoid exposure of skin and eyes to direct sunlight or bright indoor light during the first 15 days after injection. Patients were re-introduced to normal light gradually. No drug interactions have been observed.

The number of PDT rounds was: 1 session obtained 39 patients (15.9%); 2 – 13 (5.3%); 3 – 159 (64.9%); 4 – 11 (4.5%); 5 – 23 (9.4%).

The patients were discharged from hospital care at a mean of 5 days (min 3, max 9) postoperatively. Patients were followed-up and asked to report on the outcome of their therapy if there is any improvement, no change or worsening of symptoms. Clinical assessment outcome was performed by a team of surgeons/physicians trained in PDT at approximately 6 weeks postoperatively. The clinical assessment criterion was based on reduction of lesional size and improvement of the initial clinical symptoms.

MRI imaging and US was performed 5–6 weeks postoperatively. Comparisons were then made to as-

sess radiological outcome. Our radiological assessment parameters included: no response-progressive disease (increase in pathology size), no response-stable disease (no change in pathology size), minimal response (reduced size by <25%), moderate response (reduced size by <50%) and significant response (reduced size by 50–75%). Identification of peri-lesional inflammation, assessing response to PDT, was also reported. The time between the rounds was 3–6 months, with treatment indicated when the patient becomes symptomatic. The mean follow-up for those patients was 21 months (min 5, max 45, stand. deviation – 4.3).

The results of study were performed using the SPSS 17 (Statistical Package for Social Scientists) by an independent statistician. The patients' data were entered onto proformas which were validated and checked by interval sampling. The fields included a range of clinical, operative and radiological parameters related to the outcome following photodynamic therapy. The results were cross tabulated and the Chi-squared statistic was used to test for differences in the incidence of outcome. Fisher's exact test was used for the analysis of contingency tables and therefore to measure the *P*-value.

Results

Eighty five out of 108 patients (78,7%) who presented with long-term or recurrent pain reported significant improvement of their symptoms ($P<0.001$); while the rest 23 of the group (21,2%) reported no change. Worsening was not observed.

Also 43 of 46 patients (93,5%) with bleeding problems reported improvement ($P<0.001$), 3 patients (6,5%) remained without changes, and nobody was reported about worsening bleeding episodes.

Swelling improvement was observed in 189 of 199 patients (95,0%, $P<0.001$); no changes reported 10 patients (5,0%).

176 of 205 patients (85,9%, $P<0.001$) reported improvement of their disfigurement, and 29 (14,1%) remained without changes.

Rate of infection problems, connected with hemangioma and malformations, was reduced in 61 of 63 patients (96,8%, $P<0.001$), and only 2 (3,2%) have not improvement.

3 patients of 5 ones (60,0%, $P<0.001$) with breathing problems observed improvement; 2 (40,0%) remained without changes.

Clinical assessment showed that good response on PDT had 148 (60,4%) patients of 245; 70 (28,6%) - moderate response, 22 (9,0%) – minimal, and only 5 (2,0%) - no response.

Radiological images assessment before and 6 week after PDT treatment showed stable pathology with no change in size in 23 (9,4%) of 245 patients; minimal response (<25% reduction) - in 37 (15,1%) patients, moderate response (<50% reduction) - in 78

(31,8%) patients, and significant response (50–75% reduction) - in 122 (49,8%) patients. 5 patient (2,0%) during the treatment showed pathology progression (lymphangioma of the mid face).

Complications of PDT: pain was reported by 12 patients (4,9%) and was mild-moderate; bleeding - 5 (2,0%); swelling - 40 (16,3%); infection - 2 (0,8%); skin burn - 6 patients (2,4%), in sequence they were observed hyperpigmentation. Skin ulceration/necrosis, sensory and motor nerve injury and hypopigmentation are not observed. (Fig 1,2,3)

Discussion

Hemangioma prognosis established that hemangioma resolve in 50% children by 7 of age. This case leads physicians to manage these patients conservative approach, but recent studies showed that patients may present with disease specific complication. This condition requires intervention and complete resolution is quite difficult to achieve. Problematic haemangiomas can cause severe functional issues including ulceration, disfigurement and affect breathing, swallowing and speech. Common locations for these problematic haemangiomas include face, ear, orbit, lower lip and airway [14].

Conventional management can include systemic or intra-lesional corticosteroids, beta blockers, chemotherapeutic agents, surgery, laser or a combination of these methods. Where lesions are large, surgery can have marked adverse effect on form and function and due to difficulty in delineating these lesions recurrences can be high. The side effects of chemotherapy are well known and radiotherapy carries the risk of inducing new tumours. Propranolol, a known non-selective beta-blocker, has been reported to induce regression in haemangiomas in newborns [11].

Conservative measures have been initially applied in the treatment of venous malformations but it had little effect. It can be useful to control growth of large lesions. Other interventional measures were applied and found to be effective, including laser surgery, sclerotherapy and surgery. Laser ablation is the gold standard management of mucosal and skin malformations. Commonly in Asian patient should be carefully applied, to prevent laser pigment skin complication. Sclerotherapy remains a good option and several authorities recommend its application with more literatures emerging regarding different techniques and injectable substances [18].

Spontaneous resolution of lymphatic malformations is extremely rare. The lesions that have been reported to resolve without treatment were small, macrocystic and within the posterior triangle of the neck [12]. Sclerotherapy is the most common intervention in many centres around the world. Laser surgery have been reported as the most useful in the management of airway malformations and vesicular eruptions on mucosal surfaces. However, when it comes to complex lesions

surgery is always considered as the first option. Resection of all diseased tissue is advocated as failure results in regrowth. Several studies have reported the use embolisation with varying substances (i.e. glue, coils and alcohol) in the management of arterio-venous malformations. This is mainly used in small and focal arterio-venous malformations, but can be used in very large life-threatening arterio-venous malformations, followed by microvascular free flaps to reconstruct the defect.

Since PDT is a non-heat generating process, there is no bystander tissue heating, and connective tissues such as collagen and elastin are largely unaffected. As a result, many tissues heal with little scarring in comparison to thermal treatment and hollow organs such as trachea, the gastrointestinal tract and major blood vessels maintain their mechanical integrity. PDT not effect on pigmentary layer of the skin and can be applied to all types of skin [20].

The effectiveness of PDT is dependant on the dosimetric profile. Ideally one would quantify the distribution of the light, fluence rate, the optical properties, the drug concentration and tissue oxygenation for PDT. The other advantage of PDT is that it can be repeated without cumulative toxicity. The success of PDT is dependent on upon the depth of necrosis being greater than the depth of the individual malformation. Thus, interstitial PDT represents as ideal, in that it allows more effective treatment of the target

tissue volume [20].

This clinical study highlights the advantage of US, in combination with PDT. It is relatively simple to perform, easily available and examinations are non-invasive. It is inexpensive, quick, and convenient and there are no known harmful effects, since it uses non-ionising radiation suited to the soft tissues and it does not cause any pain. Ultrasound can be used to guide the optical fibres to the appropriate disease volume, enabling more accurate evaluation of treatment doses.

Conclusion

The management of vascular anomalies continue to be extremely challenging. Although several modalities have been developed and the literature reports successful treatment in many, data from long term studies reports relapse in many and the need for re-treatment or another intervention. PDT is not superior to other modalities, but it is characterised by being one of the least invasive, being repeatable with no residual toxicity and with a minimal bystander effect on the overall tissue architect and integrity as well as nerves.

The growing body of evidence regarding its efficacy, the increasing use of image guided PDT, and the innate minimally invasive characteristics of PDT suggest that it should become an important addition to the various techniques used in the management of vascular anomalies.

References

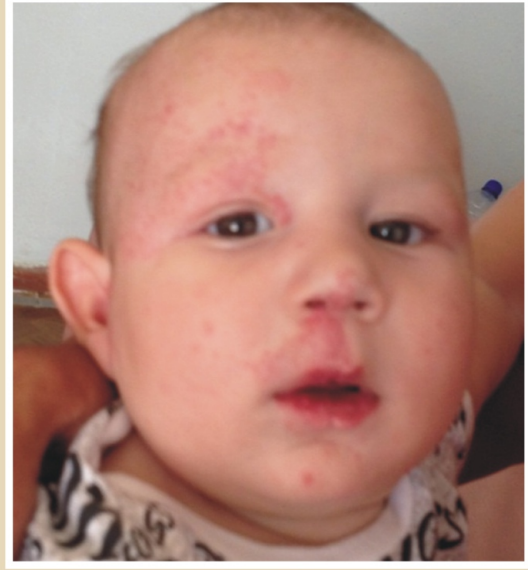
1. Blei F. Congenital lymphatic malformations // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*- 1131: P.185–194,2008
2. Boon L.M. Glomuvenous malformation (glomangioma) and venous malformation: Distinct clinico-pathologic and genetic entities / L.M.Boon, J.B.Mulliken, O.Enjolras, M.Vikkula M. // *Arch. Dermatol.*- 2004/- Vol.140 №8.- P.971–976.
3. Buckmiller L.M. Diagnosis and management of hemangiomas and vascular malformations of the head and neck / L.M.Buckmiller, G.T.Richter, J.Y.Suen // *Oral Dis.*- 2010.- Vol.16, №5.- P.405-418.
4. De Visscher S.A. mTHPC mediated photodynamic therapy (PDT) of squamous cell carcinoma in the head and neck: A systematic review / S.A.de Visscher, P.U.Dijkstra, I.B.Tan et al. // *Oral Oncol.*- 2012.- №12.- P.1368-1375.
5. Drolet B.A. Hemangiomas in children / B.A.Drolet, N.B.Esterly, I.J.Frieden // *New Engl. J. Med.*- 1999.- Vol.341, №3.- P.173–181.
6. Duyka L.J. Progesterone receptors identified in vascular malformations of the head and neck / L.J.Duyka, C.Y.Fan, J.M.Coviello-Malle et al. // *Otolaryngol. Head Neck Surg.*- 2009.- Vol.141, №4.- P.491–495.
7. Ethunandan M. Haemangiomas and vascular malformations of the maxillofacial region: review / M.Ethunandan, T.K.Mellor // *Brit. J. Oral Maxillofac. Surg.*- 2006.- Vol.44, №4.- P.263–272.
8. Fitzpatrick T.B. Soleil et peau // *Journal de Médecine Esthétique.*- 1975.- №2.- P.33–34.
9. Hennig G. Photobleaching-based method to individualize irradiation time during interstitial 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy / G.Hennig, H.Stepp, A.Johansson // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*- 2011.- Vol.8, №3.- P.275-281.
10. Jeong H.S. Treatment for extracranial arteriovenous malformations of the head and neck / H.S.Jeong, C.H.Baek, Y.I.Son et al. // *Acta Otolaryngol.*- 2006.- Vol.126, №3.- P.295–300.
11. Kohout M.P. Arteriovenous malformations of the head and neck: Natural history and management / M.P.Kohout, M.Hansen, J.J.Pribaz, J.B.Mulliken // *Plast. Reconstr. Surg.*- 1998.- Vol.102, №3.- P.643–654.
12. Léauté-Labrèze C. Propranolol for severe hemangiomas of infancy / C.Léauté-Labrèze, E.Dumas de la Roque, T.Hubiche et al. // *New Engl. J. Med.*- 2008.- Vol.358, №24.- P.2649–2651.
13. Mavrikakis I. The role of thrombosis as a mechanism of exacerbation in venous and combined venous lymphatic vascular malformations of the orbit / I.Mavrikakis, M.K.Heran, V.White, J.Rootman // *Ophthalmology.*- 2009.- Vol.116, №6.- P.1216–1224.
14. Mulliken J.B. Classification of pediatric vascular lesions / J.B.Mulliken, J.Glowacki // *Plast. Reconstr. Surg.*- 1982.- Vol.70, №1.- P.120–121.
15. North P.E. Congenital non-progressive hemangioma: A distinct clinico-pathologic entity unlike infantile hemangioma / P.E.North, M.Waner, C.A.James et al. // *Arch. Dermatol.*- 2001.- Vol.137, №12.- P.1607–1620.
16. Perkins J.A. Clinical outcomes in lymphocytopenic lymphatic malformation patients / J.A.Perkins, R.M.Temper, M.C.Hannibal, S.C.Manning // *Lymphat. Res. Biol.*- 2007.- Vol.5, №3.- P.169–174.

Sadykov R.R.

Children vascular anomalies management: results of photodynamic therapy



Before



After

Figure 1. Capillary malformation (upper eyebrow, lips) subjected to PDT. Clinical evaluation reported good response to the therapy. Radiological response was significant.



Before PDT



After PDT

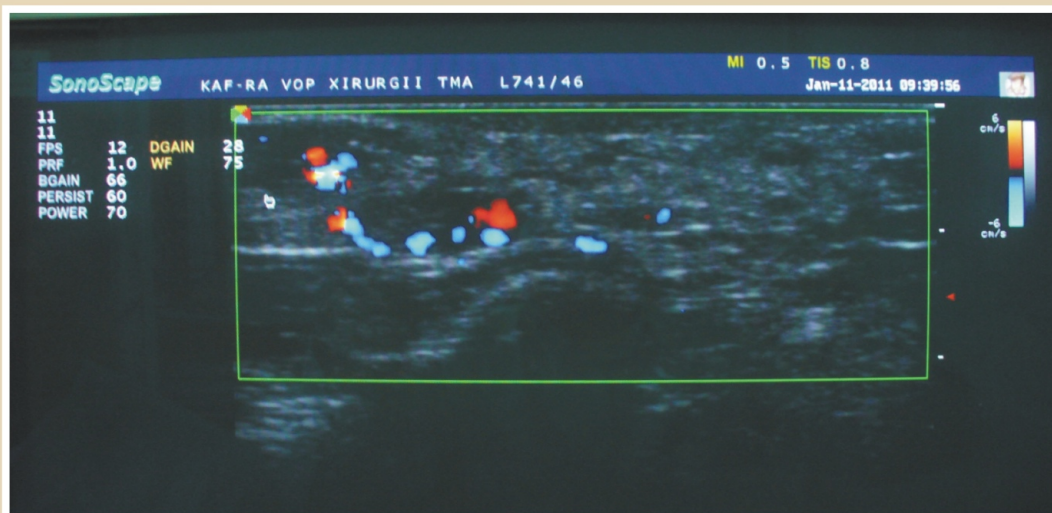
Figure 2. Venous malformation (lower eye lid) subjected to PDT. Clinical evaluation was good response.

Sadykov R.R.

Children vascular anomalies management: results of photodynamic therapy



Before PDT



After PDT

Figure 3. Doppler ultrasound evaluation reported good response to the therapy.

17. Richter G.T. Arteriovenous malformations of the tongue: A spectrum of disease / G.T.Richter, J.Suen, P.E.North et al. // Laryngoscope.- 2007.- Vol.117, №2.- P.328-335.
18. Sandell J.L. A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT / J.L.Sandell, T.C.Zhu // J. Biophotonics.- 2011.- Vol.4, №11-12.- P.773-787.
19. Schumacher M. Treatment of venous malformations – comparison to lymphatic malformations / M.Schumacher, U.Ernemann, A.Berlis, J.Weber // Lymphology.- 2008.- Vol.41, №3.- P.139-146.
20. Seccia A. Combined radiological and surgical treatment of arteriovenous malformations of the head and neck / A.Seccia, M.Salgarello, E.Farallo, P.G.Falappa // Ann. Plast. Surg.- 1999.- Vol.43, №4.- P.359-366.
21. Svanberg K. Photodynamic therapy: superficial and interstitial illumination / K.Svanberg, N.Bendsoe, J.Axelsson et al. // J. Biomed. Opt.- 2010.- Vol.15, №4.- P.041502.
22. Wu J.K. Auricular arteriovenous malformation: Evaluation, management, and outcome / J.K.Wu, A.Bisdorff, F.Gelbert et al. // Plast. Reconstr. Surg.- 2005.- Vol.115, №4.- P.985-995.

ЛЕЧЕНИЕ СОСУДИСТЫХ АНОМАЛИЙ У ДЕТЕЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Садыков Р.Р.

Ташкентская медицинская академия, хирургическое отделение,

e-mail: srrdoktor@yahoo.com

В работе исследована роль фотодинамической терапии в лечении сосудистых аномалий у детей. В ходе ретроспективного (за 2009-2012 гг.) исследования проанализированы результаты хирургического лечения 245 детей с сосудистыми аномалиями в Ташкентской медицинской академии, Узбекистан. После междисциплинарного обсуждения, всем пациентам проводилась фотодинамическая терапия под общим наркозом, с 5-АЛК в качестве фотосенсибилизатора. В ходе лечения 85 из 108 пациентов, жаловавшихся на длительные боли, отметили улучшение. 43 из 46 больных, страдавших кровотечениями, вызванными сосудистыми аномалиями, сообщили об их значительном уменьшении. Сокращение размеров отека наблюдали 189 из 199 пациентов, а сокращение косметических дефектов, вызванных сосудистыми аномалиями – 176 из 205 пациентов, имевших такие жалобы до лечения. В 63 из 65 случаев прекратились инфекционные проявления этих патологий. Клиническая оценка показала, что у более чем половины пациентов наблюдался хороший лечебный эффект. Значительный клинический ответ имел место у 148 (60,4%) больных, умеренный - у 70 (28,6%). Сравнение радиологических и ультразвуковых изображений через 6 недель после фотодинамической терапии с исходными показало, что у 78 (31,8%) больных имел место умеренный лечебный эффект, а у 122 (49,8%) пациентов - значительный.

Ключевые слова: гемангиома, врожденная и детская, пороки развития, дети, фотодинамическая терапия.

ЛІКУВАННЯ СУДИННИХ АНОМАЛІЙ У ДІТЕЙ: РЕЗУЛЬТАТИ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Садиков Р.Р.

Ташкентська медична академія, хірургічне відділення,

e-mail: srrdoktor@yahoo.com

У роботі досліджено роль фотодинамічної терапії у лікуванні судинних аномалій у дітей. Під час ретроспективного (за 2009-2012 рр.) дослідження проаналізовані результати хірургічного лікування 245 дітей з судинними аномаліями у Ташкентській медичній академії, Узбекистан. Після міждисциплінарного обговорення, всім пацієнтам проводилася фотодинамічна терапія під загальним наркозом, з 5-АЛК в якості фотосенсибілізатора. Під час лікування 85 зі 108 пацієнтів, які скаржились на довгостроковий біль, відзначили покращення. 43 з 46 хворих, що страждали на кровотечі, спричинені судинними аномаліями, повідомили про їх значне зменшення. Скорочення розмірів набряку спостерігали 189 зі 199 пацієнтів, а скорочення косметичних дефектів, що спричинені судинними аномаліями – 176 зі 205 пацієнтів, які мали такі скарги до лікування. У 63 з 65 випадків припинились інфекційні прояви цих патологій. Клінічна оцінка показала, що у більше половини пацієнтів спостерігався добрий лікувальний ефект. Значна клінічна відповідь мала місце у 148 (60,4%) хворих, помірна - у 70 (28,6%). Порівняння радіологічних та ультразвукових зображень через 6 тижнів після фотодинамічної терапії з показано, що у 78 (31,8%) хворих мав місце помірний лікувальний ефект, а у 122 (49,8%) пацієнтів - значний.

Ключові слова: гемангіома, природжена та дитяча, вади розвитку, діти, фотодинамічна терапія.

ВИБІР ОПТИМАЛЬНОГО ЕНЕРГЕТИЧНОГО РЕЖИМУ ЕНДОВЕНОЗНОЇ ЛАЗЕРНОЇ КОАГУЛЯЦІЇ

Мелеховець Ю.В., Леонов В.В., Мелеховець О.К., *Синяченко Ю.О.

Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 Україна,
тел.: (0542) 660-949, e-mail: meloksana@yandex.ua;

*Сумська клініка лазерної медицини, вул. Воскресенська, 1, м. Суми, 40030 Україна,
тел.: (0542) 799-799, e-mail: laser.sumy@gmail.com

Вивчено ефективність різних енергетичних режимів ендовенозної лазерної коагуляції (ЕВЛК) варикозно зміненої великої підшкірної вени (ВПВ) нижніх кінцівок при використанні безперервного інфрачервоного випромінювання з довжиною хвилі 1470 нм. В залежності від режиму лазерної коагуляції було сформовано дві групи: в 1-у групу включено 104 пацієнти, у яких ЕВЛК була проведена з використанням потужності випромінювання 10 Вт, у 2-у групу – 102 пацієнти, у яких застосовано потужність 15 Вт. Ультрасонографічний моніторинг проводився на 2-у, 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу, на 5-й, 6-й та 8-й тижні після оперативного втручання з метою оцінки ехогенності, наявності кровоплину та рефлюксу, вимірювання діаметру вени. Оклюзія ВПВ в обох групах відмічалася вже через добу. Після проведення ЕВЛК середній діаметр тяжу зменшувався через 1 тиждень з 8,1 мм (перед втручанням) до 6,8 мм, а через 8 тижнів - до 5,6 мм ($P < 0,001$). Протягом всього терміну дослідження наявності рефлюксу запроTOCOLьовано не було. Клінічна оцінка впливу лазерного випромінювання з різною потужністю на периферичні тканини, що оточують ВПВ, була проведена через 8 тижнів після втручання за допомогою шкали Venous Clinical Severity Score (VCSS). Більша кількість локальних пошкоджень спостерігалась за більшої потужності (15 Вт): екхімозів – 39,4% в 1-й групі проти 50,9% у 2-й; больових тяжів - 26,9% в 1-й групі проти 34,3% у 2-й; гіперпигментацій – 6,8% проти 18,6%. Враховуючі отримані результати, можна рекомендувати використання для ЕВЛК потужності випромінювання 10 Вт з лінійною щільністю енергії до 30 Дж/см як достатньої для досягнення фіброзування тромботичних мас протягом довжини стріпінгу та мінімізації клінічних симптомів локальних тканинних пошкоджень.

Ключові слова: ендовенозна лазерна коагуляція, велика підшкірна вена, ультрасонографічний моніторинг, шкала VCSS.

Вступ

Розповсюдженість варикозної хвороби нижніх кінцівок в різних країнах світу сягає від 20 до 40%. В загальному спектрі цієї патології превалює відсоток неускладнених форм, але 10% хворих мають тяжкий перебіг хвороби з наявністю трофічних виразок [7]. Основними вимогами до вибору тактики лікування є малотравматичність хірургічного втручання, мінімізація часу післяопераційної реабілітації, запобігання постопераційних ускладнень. Тому серед оперативних підходів до лікування хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок невинно зростає вага малоінвазивних хірургічних втручань [4, 6]. В сучасній ангіології провідне місце найчастіше надається ендовенозній лазерній коагуляції (ЕВЛК) [1].

Водночас набуває подальшої актуальності питання вибору енергетичних режимів проведення ЕВЛК. Думка провідних флебологів [5, 3] схиля-

ється до використання в якості джерела випромінювання напівпровідникових лазерів. Але в виборі енергетичних параметрів лазерного випромінювання ще не сформовано єдиного підходу [2, 9, 10].

Метою роботи є вивчення ефективності різних енергетичних режимів ЕВЛК варикозно зміненої великої підшкірної вени (ВПВ) нижніх кінцівок з застосуванням інфрачервоного лазерного випромінювання.

Матеріали та методи

Для проведення ЕВЛК використовувався апарат «Ліка-хірург» (виробництво НВП «Фотоніка плюс», м. Черкаси), що генерував безперервне випромінювання з довжиною хвилі 1470 нм та потужністю 10 Вт або 15 Вт. У 104 хворих 1-ї групи ЕВЛК проводилась при потужності 10 Вт, у 102 хворих 2-ї групи – при 15 Вт.

Усі ці хворі страждали на хронічну венозну недостатність нижніх кінцівок клінічних класів C₂–C₆ за класифікацією CEAP (Clinical, Etiology, Anatomical and Pathology) з діаметром ВПВ до 14 мм. Критеріями виключення були: наявність супутніх захворювань в стадії декомпенсації; наявність в анамнезі тромбозу глибоких вен та будь-яких інвазивних втручань з приводу хронічної венозної недостатності; діаметр ВПВ більш за 14 мм; нерівний хід стволу (таким хворим проводилось ЕВЛК з кросектомією).

Після проведення загальноклінічного та лабораторного обстежень хворим виконувалось ультрасонографічне дуплексне дослідження - передопераційне картування вен нижніх кінцівок - у сірошкальному В-режимі та кольоровому доплерівському режимі за допомогою апаратів Toshiba Aplio XG (Японія) и SonoScape-S6 (Китай) у положенні стоячи та лежачи.

Клінічний та ультрасонографічний моніторинг ефекту ЕВЛК проводився згідно консенсусу Міжнародного об'єднання флебологів (Union Internationale de Phlébologie) на 2-у, 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу, на 5-й, 6-й та 8-й тиждень після оперативного втручання з оцінюванням як негайних, так і короточасних ефектів [8, 10].

Стандартним методом оцінки змін післяопераційної гемодинаміки та морфології судин є дуплексне сонографічне дослідження. За даними European Society of Radiology «Doppler evaluation of recurrence after varicose vein surgery» (2013 р.), критерієм ефективності лікування є відсутність кровоплину в ділянці хірургічного втручання, що свідчить про досягнення повної оклюзії вени. За стандартну точку вимірювання діаметру ВПВ

нами була прийнята відстань 3 см дистально від сафено-феморального сполучення.

При проведенні моніторингу у В-режимі оцінювались наступні характеристики: наявність оклюзії вени; ступінь компресії ультразвуковим датчиком підлеглої судини; формування посттромботичного фіброзу в просвіті судини; вимірювання діаметру вени в ділянці, яку було піддано лазерній коагуляції. Наявність кровоплину або рефлюксу визначались кольоровим доплером.

Характеристика клінічних груп до оперативного втручання наведена в табл. 1.

Передопераційна туменесцентна анестезія проводилась розчином Клейна (розрахункова доза - 0,1% розчин лідокаїну з натрія бікарбонатом в дозі 5-10 мл на см довжини вени), що забезпечувало зовнішню компресію вени та видавлювання крові з необхідного сегмента. Завдяки цьому досягалось зменшення відстані між стінкою судини й джерелом лазерного випромінювання (світловодом) та мінімізація перегріву паравазальних тканин.

Під контролем ультразвуку виконувалась пункція ВПВ та вводився провідник (використовувалось торцеве світлооптичне волокно з діаметром 600 мкм) на відстань 0,5 см до сафено-стегового зв'язу.

При плануванні ЕВЛК головним завданням є підбір оптимальної щільності енергії випромінювання, достатньої для розвитку незворотної судинної оклюзії варикозно зміненої вени, та водночас спричиняючої мінімальне пошкодження судинної стінки (запобіганням перфорації).

Характеристика режимів лазерної коагуляції наведена в таблиці 2.

Таблиця 1

Характеристика клінічних груп

Клінічні класи CEAP	1-а група (n = 104)	2-а група (n = 102)
C ₂	23 (22%)	20 (19,6%)
C ₃	66 (63,6%)	68 (66,6%)
C ₄	8 (7,7%)	6 (5,9%)
C ₅ -C ₆	7 (6,7%)	8 (7,9%)
Середній вік, років	51±4,6	52±5,2
Стать, чол./жін.	26/78 (25/75%)	28/76 (27,4%/72,6%)
Середній діаметр ВПВ (мінімальне та максимальне значення), мм	8,1 (4,5–12,0)	8,1 (5,1–12,0)
Наявність рефлюксу	100%	100%
Наявність неспроможних перфорантів	100%	100%
Наявність виразок	7 (6,7%)	8 (7,8%)

Таблиця 2

Характеристики проведення ЕВЛК для двох енергетичних режимів

Показник	1-а група (n = 104)	2-а група (n = 102)
Потужність випромінювання, Вт	10	15
Середня довжина ділянки коагуляції, см	28,8	29,2
Середня лінійна щільність енергетичної дози, Дж/см	28,2	45,5
Середня сумарна доза енергії, Дж	812,2	1328,6

Швидкість тракції світловоду при проведенні лазерної коагуляції складала 0,1-0,2 см/сек.

Заключним етапом операції була компресія оперованих кінцівок тугим бинтуванням. Середній час, що потребувало оперативне втручання, складав 210 хв. (110–280 хв.).

Дозована хода у компресійному трикотажі другого класу призначалась протягом 1 години. Час післяопераційного нагляду за хворими в середньому складав 2 години. Після заключного огляду хірурга з оцінкою клінічного стану та больового синдрому за візуальною аналоговою шкалою оцінки болю Verbal Descriptor Scale робився висновок щодо необхідності призначення фармакотерапії (нестероїдні протизапальні засоби та антибіотики протягом 5 діб, знеболюючі).

Для оцінки клінічного статусу використовувались шкали Clinical Etiologic Anatomic Pathophysiologic (CEAP), Venous Clinical Severity Score (VCSS) та аналогова шкала болю, що дозволяють визначити ступінь повсякденної активності та надійність компресії [11].

Для статистичної обробки отриманих результатів був використаний комп'ютерний кореляційний та регресійний аналіз (програми Microsoft Excel та Statistica-Stat-Soft).

Результати дослідження та їх обговорення

У обох групах комплаєнс протягом 8 тижнів обстеження був 100%.

В усіх хворих на першу добу після ЕВЛК відмічаються сонографічні ознаки оклюзії ВПВ: відсутність рефлюксу та кровоплину (кольорових спайків при доплерівському дослідженні); неоднорідна гіпоехогенна ехокартина просвіту вени та гіперехогенність її задньої стінки. Ці дані свідчать про формування тромботичних мас у ділянці ЕВЛК.

Після проведення лазерної коагуляції середній діаметр ВПВ зменшувався з 8,1 мм перед втручанням у середньому на 17% через 1 тиждень - до 6,8 мм, та на 69% через 8 тижнів - до 5,6 мм ($p < 0,001$).

Подальший моніторинг демонстрував поступове підвищення ехогенності просвіту судини протягом 6-8 тижнів, пов'язане з процесами

фіброзування тромботичних мас та формування сполучнотканинного тяжу.

Розбіжності між двома досліджуваними групами статистично недостовірні, тобто темпи облітерації не залежать від обраного енергетичного режиму лазерної коагуляції.

Клінічна оцінка впливу випромінювання з різною потужністю на периферичні тканини, що оточують оперовану вену, була проведена через 6 тижнів за допомогою шкали VCSS. Отримані результати свідчать про більшу кількість локальних пошкоджень при збільшенні лінійної щільності випромінювання: в 1-й групі – екхімозів – 39,4% (41 особа), больових тяжів - 26,9% (28 осіб), гіперпігментацій – 6,8% (7 осіб); у 2-й групі хворих – екхімозів 50,9% (52 особи), больових тяжів – 34,3% (35 осіб), гіперпігментацій – у 18,6% (19 хворих).

Таким чином, швидкість досягнення повної облітерації судини при проведенні ЕВЛК випромінюванням з довжиною хвилі 1470 нм не залежить від вибору потужності між 10 Вт та 15 Вт. Лінійна щільність енергії 28,2 Дж/см, що досягається при використанні потужності 10 Вт, є достатнім рівнем для ефективної оклюзії вен вже на першу добу. Через 6 тижнів досягнення повного фіброзування тромботичних мас, незворотність судинної облітерації підтверджуються ультрасонографічно в обох групах, й мета хірургічного лазерного втручання може розцінюватися як досягнута. Але при оцінці впливу різної потужності лазерного випромінювання та лінійної щільності на периферичні тканини виявлено більшу кількість локальних ускладнень в групі, де була застосована більша потужність (15 Вт).

Висновки

Враховуючі отримані результати, можна рекомендувати використання для ЕВЛК варикозної хвороби ВПВ нижніх кінцівок інфрачервоного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 1470 нм та лінійною щільністю енергії до 30 Дж/см як достатньою для досягнення фіброзування тромботичних мас протягом довжини стріпінгу та одночасно мінімізації клінічних симптомів локальних тканинних пошкоджень.

Література

1. Малахов Ю.С. Преимущества эндовенозной лазерной коагуляции в хирургическом лечении варикозной болезни / Ю.С.Малахов, Д.А.Аверьянов, А.В.Иванов // Ангиология и сосудистая хирургия.- 2011.- Т.17, №4.- С.77-82.
2. Назаренко Г.Н. Эндовазальная коагуляция вен высокоэнергетическим лазером (Nd:YAG) в лечении варикозной болезни нижних конечностей /

- Г.Н.Назаренко, В.В.Кунгурцев, В.И.Сидоренко, Г.А.Кучин // Флебология.- 2008.- Т.2, №3.- С.10-15.
3. Савельев В.С. Флебология: руководство для врачей.- М.: Медицина, 2005.- 661 с.
4. Чернооков А.И. Хирургическое лечение варикозно измененных притоков подкожных вен / А.И.Чернооков, А.Ю.Котаев, П.Е.Вахрамьян, А.М.Николаев // Ангиология и сосудистая хирургия.- 2013.- Т.19, №4.- С.77-81.

5. Шайдаков Е.В. Эндовазальная лазерная облитерация магистральных подкожных вен – механизм действия / Е.В.Шайдаков, Е.А.Илюхин, А.В.Петухов // Ангиология и сосудистая хирургия.- 2012.- Т.18, №1.- С.148-156.
6. American College of Phlebology. Practice guidelines, varicose vein surgery.- 2012 / Интернет-ресурс <http://phlebology.org/resources/Varicose-Vein-Rx-Guidelines.pdf>.
7. Evans C.J. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study / C.J.Evans, F.G.Fowkes, C.V.Ruckley, A.J.Lee // J. Epidemiol. Community Health.- 1999.- Vol.53.- P.149-53.
8. Galeandro A. Doppler ultrasound venous mapping of the lower limbs. Level 3 Evidence - Independent / A.Galeandro, G.Quistelli, P.Scicchitano et al. // Vascular Health and Risk Management- 2012.- №8.- P.59-64.
9. Meissner M. What is the medical rationale for the treatment of varicose veins? // Phlebology.- 2012.- Vol.27, №10.- P.27-33.
10. Proebstle T.M. Reduced recanalization rates of the great saphenous vein after endovenous laser treatment with increased energy dosing: definition of a threshold for the endovenous fluence equivalent / T.M.Proebstle, N.Moehler, S.Herdemann // J. Vasc Surg.- 2006.- Vol.44, №4.- P.834-839.
11. Vasquez M. Revision of the venous clinical severity score: Venous outcomes consensus statement: Special communication of the American Venous Forum Ad Hoc Outcomes Working Group / M.Vasquez, E.Rabe, R.McLafferty et al. // J. Vasc. Surg.- 2010.- Vol.52, №5.- P.1387-1396.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО РЕЖИМА ЭНДОВЕНОЗНОЙ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ

*Мелеховец Ю.В., Леонов В.В., Мелеховец О.К., Синяченко Ю.О.**

Сумської державний університет, Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007, Україна

Тел.: (0542) 660949, meloksana@yandex.ua

**Сумська клініка лазерної медицини, Воскресенська, 1, Суми, 40030, Україна*

Тел.: 0542 799799, laser.sumy@gmail.com

В исследовании были изучены энергетические режимы эндовенозной лазерной коагуляции (ЭВЛК) варикозно измененной большой подкожной вены (БПВ) при использовании ЭВЛК с длиной волны 1470 нм. В зависимости от режима лазерной абляции были сформированы две группы: в 1-ую группу включено 104 пациента после ЭВЛК с использованием мощности излучения 10 Вт в непрерывном режиме, во 2-ю группу – 102 пациента с использованием при ЭВЛК мощности излучения 15 Вт. Сонографический мониторинг проводился на 2, 7, 14, 21, 28 сутки и на 5-й, 6-й и 8-й неделях после оперативного вмешательства с целью оценки эхогенности, наличия кровотока и рефлюкса, измерения диаметра вены после абляции. Оклюзия БПВ в обеих группах была достигнута уже на первые сутки после операции. Стандартной точкой измерения диаметра БПВ было принято расстояние 3 см дистально от сафено-фemorального соединения. После проведения лазерной абляции средний диаметр тяжа уменьшался через 1 неделю с 8,1 мм (до вмешательства) до 6,8 мм, через 8 недель – до 5,6 мм (206 нижних конечностей) со статистической достоверностью $P < 0.001$. Наличие рефлюкса в течение всего периода наблюдения запротоколировано не было. Клиническая оценка влияния мощности лазерного излучения на периферические ткани вокруг вены была проведена через 8 недель по шкале Venous Clinical Severity Score (VCSS). Полученные результаты свидетельствуют о большем количестве локальных повреждений при увеличении мощности лазерного излучения с 10 Вт до 15 Вт: экхимозов - с 39,4% в 1-ой группе до 50,9% во 2-ой группе; болевых тяжей - 26,9% в 1-ой группе до 34,3% во 2-ой группе; гиперпигментаций – с 6,8% в 1-ой группе до 18,6% во 2-ой группе. Учитывая полученные результаты, можно рекомендовать использование мощности лазерного излучения 10 Вт с линейной плотностью энергии до 30 Дж/см как достаточной для достижения фибрирования тромботических масс на длине стриппинга при минимизации клинической симптоматики локальных тканевых повреждений.

Ключевые слова: эндовенозная лазерная коагуляция, ЭВЛК, большая подкожная вена, сонографический мониторинг, VCSS.

ON THE ENDOVENOUS LASER COAGULATION OPTIMAL ENERGETIC REGIMENT

*Melekhovets Y.V., Leonov V.V., Melekhovets O.K., *Sinyachenko Y.O.
Sumy State University, 2, Rymkogo-Korsakova st., 40007, Sumy, Ukraine
Tel.: (0542) 660949, meloksana@yandex.ua
*Sumy Laser Medicine Clinic, 1 Voskresenskaya st., 40030, Sumy, Ukraine
Tel.: (0542) 799799, laser.sumy@gmail.com*

This was a study of endovenous laser (EVLC) coagulation for the treatment of incompetent varicose great saphenous veins (GSVs) with an endovenous diode laser 1470-nm. Two energetic regiments were compared: a laser by continuous emission at 10 W in 104 patients (1st group) and a laser by continuous emission at 15 W in 102 patients (2nd group). Duplex ultrasound (DUS) monitoring was performed during follow-up visits on 7, 14, 21, 28 days, 5th, 6th and 8th weeks to evaluate lumen echogenicity, to detect the presence of blood flow and reflux, and to measure vein diameters, following laser ablation. Initial vein occlusion in both groups was achieved immediately after laser ablation. Mean diameters of the GSV-derived fibrotic cord decreased from the vein diameter 8.1 mm before treatment to 6,8 mm at 1 week after intervention and to 5,6 mm at 8 weeks ($p < 0.001$). Reflux was not documented during follow-up. In addition to DUS imaging, clinical findings were evaluated using Venous Clinical Severity Scope (VCSS) at the same time intervals. VCSS estimation on the 8th week has demonstrated greater prevalence of local complications with larger energy (15 W): ecchymosis – 39,4% in the 1st group compared to 50,9% in the 2nd group; pain fibrotic cords - 26,9% in the 1st group compared to 34,3% in the 2nd group; skin hyperpigmentation – 6,8% in the 1st group compared to 18,6 in the 2nd group.

It has been shown that 10 W laser emissions with linear energy density up to 30 J/sec is enough for achieving of fibrotic changes in the vein lumen on all the stripping length with minimising of clinical sings and local complications.

Keywords: *endovenous laser coagulation, EVLC, great saphenous vein, duplex ultrasound monitoring, Venous Clinical Severity Scope, VCSS.*

МНОГОФАКТОРНЫЙ ПОДХОД В ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДОРСОПАТИЕЙ

Чухраев Н.В., Униченко А.В., Владимиров А.А., *Левковская В.И.

ООО «НМЦ Мединтех», Украина, г. Киев, ул. Почайнинская, д.23, оф.2,
тел. +38(044)531-37-09, e-mail: nv1111@mail.ru

*Государственное учреждение «Дорожная клиническая больница №2 ст. Киев»
Государственного территориального ведомственного объединения
«Юго-Западная железная дорога», Украина, г. Киев, Воздухофлотский просп., 9.

В статье приведены результаты клинических исследований по применению многофакторного подхода в психофизиологической коррекции тревожно-депрессивных расстройств на основе применения микрополяризации коры головного мозга в сочетании с эндоназальным дыханием синглетн-кислородной смеси при лечении больных дорсопатией на основе многоуровневого подхода с применением магнитолазерной и ультразвуковой терапии.

Ключевые слова: магнитолазерная терапия, ультрафонофорез, синглетно-кислородная терапия, психофизиологическая коррекция, тревожно-депрессивные расстройства, дорсопатия.

Современные требования к реализации медицинских протоколов лечения различных заболеваний предполагают необходимость использования новых технологий, позволяющих уменьшить медикаментозную нагрузку, обеспечить максимальное восстановление нарушения работы функциональных систем, ускорить процессы реабилитации при социально значимых заболеваниях и улучшить качество жизни больных [1].

Цель исследования: разработка протокола и исследование эффективности психофизиологической коррекции тревожно-депрессивных расстройств (ТДР) при лечении больных дорсопатией. В ходе исследования решались следующие задачи:

1. Разработка многофакторного подхода в психофизиологической коррекции тревожно-депрессивных расстройств на основе применения микрополяризации коры головного мозга в сочетании с эндоназальным дыханием синглетно-кислородной смеси

2. Сравнение различных вариантов психофизиологической коррекции тревожно-депрессивных расстройств при лечении дорсопатии.

Материалы и методы

Для определения наиболее эффективного протокола лечения дорсопатии были пролечены 90 пациентов в возрасте 25-65 лет (42 женщины, 48 мужчин) с диагнозом дорсопатия поясничного отдела

позвоночника, которые распределялись случайным образом на 5 групп. Критерием для включения в исследование было наличие у больных установленного дорсопатии и ТДР, а также информированное согласие на участие в исследовании. Все больные находились на амбулаторном лечении в отделении восстановительного лечения и дневного стационара поликлиники Государственного учреждения «Дорожная клиническая больница №2 ст. Киев».

В 1-й группе (19 больных) проводилось лечение дорсопатии в соответствии с протоколом [3] (сочетание местного воздействия – ультрафонофореза карипаину и магнитолазерное воздействие. Параметры процедуры: Аппарат МИТ-11, частота ультразвуковых колебаний - 44 кГц, частота повторения подачи импульсов и модуляции магнитолазерного воздействия - 9,4 Гц, амплитуда УЗ колебаний 3 мкм, индукция магнитного поля 30 мТл, мощность оптического потока красного спектра 30 мВт, мощность оптического потока инфракрасного спектра 50 мВт, ультразвуковой форез выполняется по лабильной методике, паравертебрально на зону боли, магнитолазерный аппликатор красного диапазона устанавливается на проекцию большого затылочного отверстия, магнитолазерный аппликатор инфракрасного диапазона устанавливается на проекцию печени, время процедуры 15 минут, курс лечения 12 процедур, процедуры проводились 3 раза в неделю. Кари-

паин: доза - 1 г, непосредственно перед процедурой разводится 10 мл физиологического раствора (или водой для инъекций). В раствор добавляют 2-3 капли Димексида. Процедуры проводятся в состоянии декомпрессии позвоночника).

Во 2-й группе (17 больных) лечение проводилось аналогично, как в группе 1. Дополнительно выполнялась психофизиологическая коррекция ТДР на основе применения эндоназального дыхания синглетно-кислородной смесью с использованием аппарата МИТ-С. Время процедуры эндоназального дыхания 15 минут, курс лечения - 12 процедур, процедуры проводившихся 3 раза в неделю [4].

В 3-й группе (18 больных) лечение проводилось аналогично, как в группе 1. Дополнительно выполнялась психофизиологическая коррекция ТДР на основе импульсной микрополяризации коры головного мозга с применением аппарата МИТ-ЭФ2. Электроды канала 1 устанавливали на правую сторону головы: плюс - на зону сосцевидного отростка, минус - на надбровную дугу. Электроды канала 2 устанавливались аналогичным образом на левую сторону головы. Частота повторения импульсов составляла $9,4 \pm 0,94$ Гц (диапазон альфа-ритма), длительность - 0,5 мс, сила тока - до появления легкого ощущения его действия, время процедуры - 15 минут, курс лечения - 12 процедур, процедуры проводились 3 раза в неделю.

При лечении 18 больных 4-й группы лечение проводилось аналогично, как в группе 1. Дополнительно выполнялась психофизиологическая коррекция ТДР на основе импульсной магнитолазерной стимуляции коры головного мозга с применением аппарата МИТ-МТ. Аппликатор с излучателем красного света (длина волны 0,67 мкм, мощность 30 мВт) устанавливался на зону межбровных дуг, аппликатор с инфракрасным излу-

чателем (0,78 мкм, 50 мВт) – на зону большого затылочного отверстия. Импульсное магнитное поле с частотой 9,4 Гц имело магнитную индукцию 30 мТл, время процедуры - 15 минут. Курс лечения - 12 процедур, процедуры проводились 3 раза неделю.

В 5-й группе (18 больных) лечение проводилось аналогично, как в группе 1. Дополнительно выполнялась психофизиологическая коррекция ТДР сочетанно по методикам, применяемым в группах 2 и 3.

Расположение больных на кушетке в состоянии декомпрессии позвоночника и варианты отпуска процедур показаны на рис. 1.

Исследование включало клинично-неврологическую оценку больных, определение интенсивности боли по количественным шкалам до лечения, после 6 процедур и после окончания курса, динамические общеклинические анализы, при необходимости - реовазографию для определения венозного оттока в нижних конечностях и магнито-резонансную томографию поясничного отдела позвоночника.

Для оценки клинических проявлений использовались: 1) опросник по J.Fairbank для определения интенсивности болевого синдрома; 2) шкала оценки состояния вегетативной нервной системы; 3) визуально-аналоговая шкала (ВАШ) оценки качества жизни по опроснику SF-36. Использование последнего позволяет количественно оценивать изменения качества жизни больных во время и после проведенного лечения.

Для оценки изменения уровня ТДР применялись психологические опросники и шкалы ситуационной и личной тревожности Спилберга-Ханина и депрессии Бека [2].

Результаты и обсуждение

До лечения основным клиническим симптомом у 90 больных дорсопатией поясничного от-



Рис. 1. Отпуск физиотерапевтических процедур больным с дорсопатией.

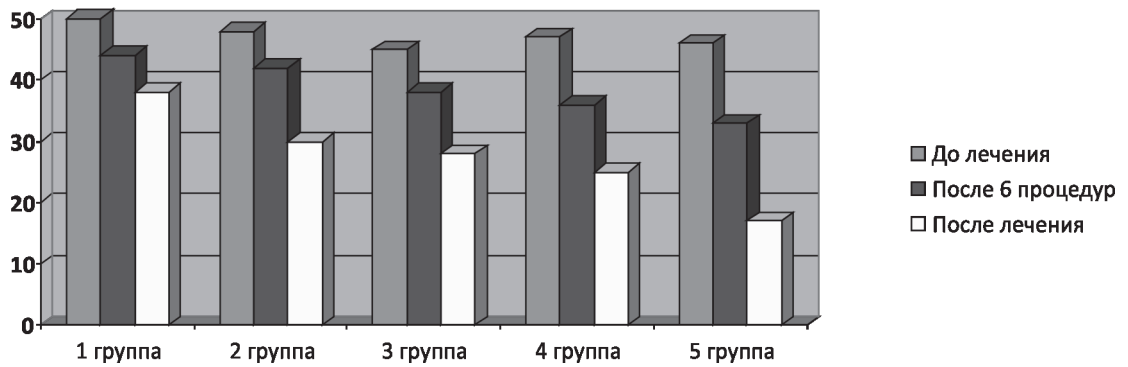


Рис. 2. Динамика изменения показателя качества жизни по данным исследования с помощью опросника SF-36.

Примечание. На всех графиках представлены значения в виде их математических ожиданий.

дела позвоночника являлась боль, а показатели ТДР во всех пяти группах пациентов были примерно одинаковы.

У всех больных имела место положительная динамика клинических проявлений после проведенного лечения. Было установлено, что сочетание местного ультрафонофореза Карипаина и магнитолазерной терапии при лечении больных дорсопатией в сочетании с психофизиологической коррекцией ТДР на основе сочетанного применения микрополяризации коры головного мозга на частоте альфа ритма и эндоназального дыхания синглетно-кислородной смеси на 45-65% снижает клинические проявления боли и почти в два раза - уровень тревоги и депрессии. В этом случае наблюдается более выраженная положительная динамика симптомов вегетативной дис-

функции, уменьшается интенсивность болевого синдрома и увеличивается длительность ремиссии, что, в свою очередь, способствует улучшению качества жизни больных, принимавших участие в исследовании.

Согласно результатам исследования по опроснику SF-36, во всех пяти группах больных после курса лечения наблюдается достоверное улучшение физического (PF), ролевого физического (RP) функционирования, общего здоровья (GH), жизненной активности (VT), эмоционального функционирования (RE), уменьшение боли по субъективным ощущениям (BR), хотя и в разной степени. Максимальное обезболивание было достигнуто в 5-й группе.

Разработанный комплекс лечения дорсопатии с психофизиологической коррекцией ТДР значи-

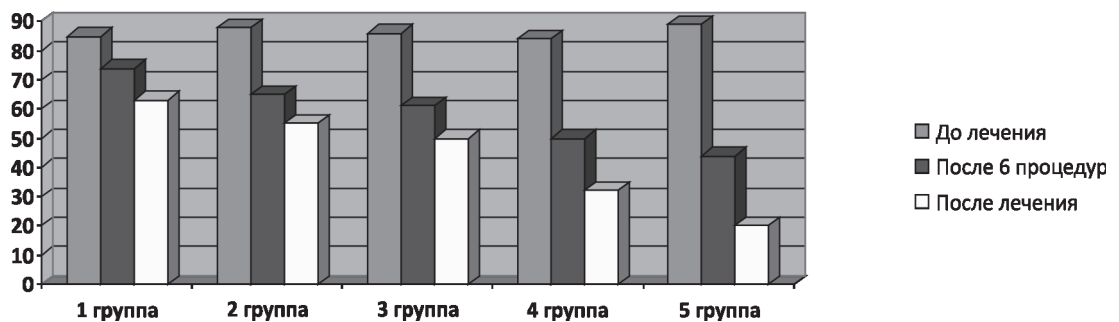


Рис. 3. Уровень ТДР по шкале ситуационной и личной тревожности Спилберга-Ханина.

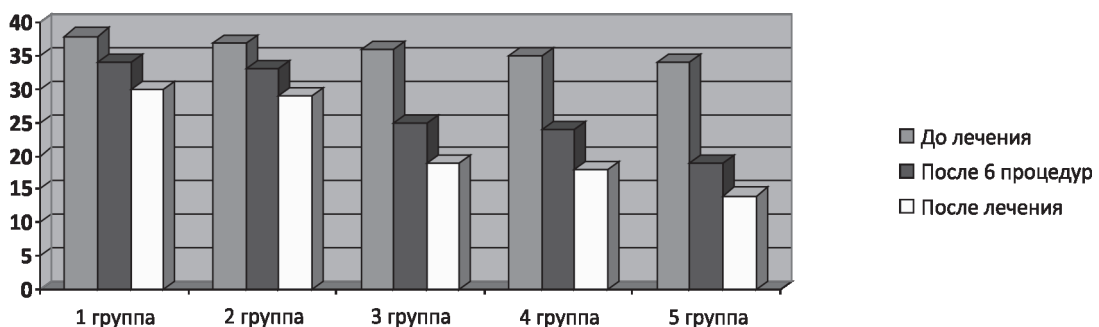


Рис. 4. Уровень ТДР по шкале депрессии Бека.

тельно улучшает эмоциональное состояние больных и достоверно повышает качество их жизни (рис. 2). Это можно объяснить тем, что снижение боли в результате проведенной терапии значительно снимает ограничения на выполнение пациентами повседневной работы, приводит к увеличению ее объемов и качества выполнения.

Изменение уровня ТДР у пациентов с дорсопатиями в ходе комплексного лечения и после окончания курса оценивалось на основе опросников Спилберга-Ханина и Бека. Средние по 5 группам результаты обследования представлены на рис. 3 и 4, соответственно. Как видно, наилучшие результаты по обеим шкалам достигнуты в 5-й группе.

Выводы

Выполнив анализ результатов исследования, мы получили, что наиболее эффективным

подходом в психофизиологической коррекции тревожно-депрессивных расстройств у больных дорсопатией при выполнении лечения на основе сочетания местного ультрафонофореза Карипаину в состоянии декомпрессии позвоночника и магнитолазерного воздействия на проекции продолговатого мозга и печени, является микрополяризация коры головного мозга на частоте альфа ритма ($9,4 \pm 0,94$ Гц) в сочетании с эндоназальным дыханием синглетно-кислородной смеси.

Дополнительная (по отношению к протоколу лечения основного заболевания) коррекция ТДР усиливает терапевтический эффект лечения.

Актуально дальнейшее изучение сочетанного применения физиотерапевтических протоколов лечения и психофизиологической коррекции ТДР для повышения эффективности терапии дорсопатии.

Литература

1. Боренштейн Д. Эпидемиология, этиология, диагностическая оценка и лечение поясничной боли// Международный медицинский журнал.– 2000.- №1.– С.36-43.
2. Медицинская реабилитация: сучасни стандарти, тести, шкали та критерії ефективності. Низькоінтенсивна резонансна фізіотерапія і її застосування в реабілітаційній медицині. Посібник /В.П.Лисенюк, І.З.Самосюк, Л.І.Фисенко та інші. Київ, 2007.
3. Самосюк И.З. Болевые синдромы (клиника, диагностика, лекарственные и физические методы терапии)/ И.З.Самосюк, Н.В.Чухраев, Н.И.Самосюк, Е.Н.Чухраева.- Киев:НМЦ «Мединтех», 2007.- 280 с.
4. И.З.Самосюк, Н.В.Чухраев. Эко-физическое обоснование применения синглетно-кислородной терапии. //Фотобіологія та фотомедицина. Міжнародний науково-практичний журнал т.V, №1, 2009, Харків, с. 73-77.

MULTIFACTORIAL APPROACH IN PSYCHOPHYSIOLOGICAL CORRECTION OF ANXIETY AND DEPRESSIVE DISORDERS IN THE TREATMENT OF PATIENTS DORSOPATHIES

*Chuhraev N.V., Unichenko A.V., Vladimirov A.A., *Levkovskaya V.I.
LLC "NMC Medintech"*

Ukraine, Kiev, Pochaynenskaya st., d.23, of.2, nv11111@mail.ru, tel. +38(044)531-37-09

** State Institution "Road Clinical Hospital №2 Art. Kiev*

"State territorial departmental association" South-Western Railway "

The results of clinical studies on the use of multi-factor approach in psychophysiological correction of anxiety and depressive disorders through the use of micropolarization cortex in conjunction with intranasal breathing singlet-oxygen mixture in the treatment of patients dorsopathy based on a tiered approach with the use of ultrasound and magnetic-therapy.

Keywords: *magneto-laser therapy, phonophoresis, singlet-oxygen therapy, psycho-physiological correction, anxiety and depressive disorders, dorsopathies.*

**БАГАТОФАКТОРНИЙ ПІДХІД У ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІЙ КОРЕКЦІЇ
ТРИВОЖНО-ДЕПРЕСИВНИХ РОЗЛАДІВ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ДОРСОПАТІЮ**

*Чухраєв Н.В., Уніченко А.В., Владимиров А.О., *Левківська В.І.*

ТОВ «НМЦ Медінтех»,

Україна, м Київ, вул.Почайненська, буд.23, оф.2, nv1111@mail.ru, тел. +38(044)531-37-09

** Державна установа «Дорожня клінічна лікарня №2 ст. Київ »*

Державного територіального відомчого об'єднання «Південно-Західна залізниця»

У статті наведені результати клінічних досліджень застосування багатofакторного підходу в психофізіологічній корекції тривожно-депресивних розладів на основі застосування мікрополяризації кори головного мозку в поєднанні з ендоназальним диханням синглетно-кисневої суміші при лікування хворих на дорсопатії на основі багаторівневого підходу із застосуванням магнітолазерної та ультразвукової терапії.

Ключові слова: *магніто-лазерна терапія, ультрафонофорез, синглетно-киснева терапія, психофізіологічна корекція, тривожно-депресивні розлади, дорсопатія.*

УДК 616.006.63

КЛИНИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ - ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Странадко Е.Ф.

ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины
Федерального медико-биологического агентства России»
121165 Россия, г. Москва, ул. Студенческая, д. 40, строение 1,
e-mail: seph04@yandex.ru; тел.: +7(917)533-26-88

За последние 20 лет сформировались научно-обоснованные направления применения фотодинамической терапии (ФДТ) в ряде отраслей медицины. ФДТ имеет ряд неоспоримых преимуществ по сравнению с традиционными методами лечения рака, а при лечении хронической гнойной инфекции (длительно не заживающих ран, трофических язв сосудистой этиологии и т. п.) - перед обычной антибактериальной терапией. В 2002 г. ФДТ впервые включена в стандарты лечения рака в России, а с 2013 г. ее официально рассматривают как альтернативный метод лечения большинства локализаций злокачественных новообразований. Для окончательного признания ФДТ новой медицинской технологией с перспективой широкого применения потребовалась оценка социально-экономической эффективности метода.

На основании анализа отечественных и зарубежных публикаций по компьютерным моделям «стоимости-эффективности», экспертной оценки и собственного опыта авторы пришли к заключению о том, что стоимость ФДТ в 3 раза меньше стоимости хирургического лечения аналогичных больных, в 2 раза меньше стоимости лазерной фотодеструкции и многокурсовой полихимиотерапии. Кроме того, ФДТ обеспечивает в среднем на 129 дней большую продолжительность спасенной жизни больных с распространенным опухолевым процессом по сравнению с интенсивным хирургическим лечением и на 48 дней – по сравнению с химиотерапией. При распространенном раке пищевода с obturацией его просвета паллиативная эндоскопическая ФДТ оказалась более эффективной и безопасной по сравнению с лазерной реканализацией при вполне сопоставимой стоимости этих методов лечения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, клиническая эффективность, социально-экономическая оценка.

Клинические аспекты применения фотодинамической терапии

Фотодинамическая терапия (ФДТ) - эффективный, органосохраняющий и относительно безопасный метод лечения рака различных локализаций (как наружных, так и висцеральных), а также целого ряда неопухолевых заболеваний.

ФДТ – трехкомпонентный метод лечения, в котором участвуют: 1) фотосенсибилизатор, селективно накапливающийся в тканях с интенсивным метаболизмом, прежде всего в тканях злокачественных опухолей; 2) красный свет с длиной волны, соответствующей длинноволновому пику поглощения фотосенсибилизатора, и 3) кислород патологических тканей, подвергаемых фотодинамическому воздействию. Накопившийся в опухоли

(или других тканях с интенсивным метаболизмом) фотосенсибилизатор активируется путем локального светового воздействия. Возникающая в присутствии кислорода тканей фотохимическая реакция вызывает генерацию высокоактивного окислителя - синглетного кислорода, губительно действующего на опухоль, что приводит к ее некрозу и резорбции за счет цитотоксического повреждения раковых клеток и деструкции питающих опухоль кровеносных сосудов. По данным экспериментальных исследований, на сосудистый механизм приходится 60% противоопухолевого действия ФДТ, на прямое цитотоксическое повреждение клеток опухоли – 30% и на иммунные механизмы – 10%.

Новые возможности, который этот метод открыл для медицины вообще и для онкологии в

частности, обусловлены тем, что солидные опухоли способны интенсивно накапливать и длительно удерживать некоторые красители с макроциклической химической структурой (порфирины, фталоцианины, хлорины). Избирательность фотоповреждения злокачественных опухолей при незначительном обратимом повреждении окружающих здоровых тканей обеспечивается за счет разного накопления фотосенсибилизатора в опухолевой и нормальной тканях, а также локальности подведения света.

Для более избирательного поражения опухолевой ткани и сохранения окружающих нормальных тканей используются волоконно-оптические методы доставки лазерного излучения к опухоли. Это, наряду с избирательным накоплением фотосенсибилизатора в опухоли, позволяет создать в зоне облучения достаточно высокую концентрацию синглетного кислорода, вызывающего функциональные и структурные нарушения в опухолевых клетках.

При ФДТ важную роль в деструкции опухоли играют также 1) повреждение эндотелия ее кровеносных сосудов с развитием их тромбоза, что приводит к геморрагическому некрозу опухоли; 2) гипертермический эффект, связанный с активным поглощением энергии света опухолевыми клетками; 3) цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухоли, активацией макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов.

Сформировалось несколько направлений применения ФДТ в онкологии.

1. При начальных стадиях рака используется ФДТ по радикальной программе, рассчитанной на излечение. Она применяется при раке кожи, языка, слизистой оболочки полости рта, гортани, легкого, пищевода, желудка, мочевого пузыря, гениталий и других локализаций. ФДТ эффективна и при предраковых заболеваниях: интраэпителиальной дисплазии III степени шейки матки и вульвы, актиническом кератозе, пищеводе Барретта и др.

2. При распространенных опухолевых процессах ФДТ используется в комбинированном и комплексном лечении в сочетании с хирургическим и лучевым методами, химиотерапией, а также при рецидивах рака кожи, нижней губы, языка, при внутрикожных метастазах и рецидивах рака молочной железы, при внутрикожных метастазах меланомы.

3. При далеко зашедших опухолевых процессах с обтурацией трахеи, крупных бронхов, пищевода, кардиального отдела желудка, желчных протоков ФДТ применяется в качестве паллиативного метода с целью реканализации просвета этих органов для ликвидации симптомов обтура-

ции. По сравнению с лазерной реканализацией она дает меньшее число осложнений и приводит к более длительному периоду ремиссии.

4. Интраоперационная (интраперитонеальная) ФДТ применяется наряду с паллиативными хирургическими операциями по удалению основного массива опухоли (debulking) при карциноматозе брюшины (диссеминированный рак яичников, желудка, толстой кишки) и саркоматозе брюшины.

5. ФДТ в качестве предоперационного воздействия применяется при центральном раке легкого для перевода больных, неоперабельных по местной распространенности процесса, в операбельные, и для уменьшения объема резекции легкого.

6. У больных с обширными распадающимися и кровоточащими опухолями ФДТ может проводиться с целью гемостаза, так как одним из механизмов фотодинамического воздействия является тромбоз сосудов опухоли и нарушение ее кровоснабжения.

ФДТ выгодно отличается от традиционных методов лечения рака высокой избирательностью поражения опухолевых клеток, отсутствием риска, связанного с хирургическим вмешательством, тяжелых местных и системных осложнений лечения, возможностью многократного повторения при необходимости лечебного сеанса, а также сочетания в одной процедуре флуоресцентной диагностики и лечения. Для ликвидации опухоли у большинства больных достаточно 1 сеанса ФДТ в амбулаторных условиях.

ФДТ позволяет лечить больных, у которых стандартные методы лечения оказались неэффективными или неприменимыми. Этот метод позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с хирургическим и лучевым методами, восстановить трудоспособность или сократить сроки нетрудоспособности больных.

Достоинства ФДТ особенно отчетливо проявляются при лечении рака кожи на лице и других открытых участках тела, так как наряду с самым высоким процентом излечений ФДТ выгодно отличается от традиционных методов лечения еще и хорошими косметическими результатами - бесценным фактором при локализации опухоли на лице, особенно у женщин.

Все более популярной в России становится антибактериальная ФДТ длительно не заживающих гнойных ран с антибиотико-резистентной флорой, трофических язв сосудистой этиологии, *acne vulgaris* и других гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. Успехи ФДТ злокачественных новообразований способствовали тому, что исследователи начали искать пути использования этой технологии для лечения различных

неопухолевых заболеваний, в том числе гнойно-воспалительных, поскольку бактерии в инфицированных ранах также захватывают и длительно удерживают фотосенсибилизаторы. Использование ФДТ для уничтожения патогенных микроорганизмов имеет большой медицинский и технологический потенциал. Фотодинамическое лечение хронической гнойной инфекции имеет некоторые преимущества перед традиционными методами антибактериальной терапии.

Эффективность ФДТ не зависит от спектра чувствительности патогенных микроорганизмов к антибиотикам: этот метод губительно действует на антибиотикорезистентные штаммы золотистого стафилококка, синегнойной палочки и др. Применяемые в клинике фотосенсибилизаторы не имеют темновой токсичности и не обладают мутагенным действием, а развитие фоторезистентности микроорганизмов маловероятно.

Противомикробное действие ФДТ не убывает со временем при длительном лечении хронических локальных инфекционных процессов. Этот метод одинаково эффективен при острой и хронической инфекции и даже при некоторых видах бациллоносительства.

Бактерицидный эффект ФДТ носит локальный характер, она не имеет системного губительного действия на сапрофитную микрофлору организма, свойственного, например, антибиотикам. Это обусловлено тем, что ни фотосенсибилизаторам, ни низкоинтенсивному световому излучению не свойственно самостоятельное системное бактерицидное действие или другие повреждающие эффекты. Фотодинамическое повреждение носит локальный характер и бактерицидный эффект лимитируется зоной светового воздействия, т. е. размером поля светового облучения сенсibilизированных тканей.

Социально-экономические аспекты применения ФДТ

В 2002 г. ФДТ была впервые включена в стандарты лечения злокачественных опухолей [9], а с 2013 г. она рассматривается в качестве одного из возможных альтернативных методов лечения большинства локализаций злокачественных новообразований [5].

В последние годы появилась новая волна публикаций с оценкой экономических затрат в различных областях медицины [3, 5, 7, 13, 15, 16]. При этом подчеркивается [7], что тарифы системы обязательного медицинского страхования отражают пока лишь часть статей расходов медицинских организаций и, несомненно, занижены по сравнению с потребностью. При оценке затрат на оказание медицинской помощи в разных ис-

следованиях используются различные подходы, вследствие чего полученные результаты несопоставимы. В одних работах расчеты выполняются на основе расценок на платные медицинские услуги, в других – используют тарифы системы обязательного медицинского страхования, в третьих – нормативы финансового обеспечения Программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи. Нормативы финансового обеспечения Программы государственных гарантий занижены, что обычно приводит к аргументу в пользу использования расценок на платные медицинские услуги для расчета прямых затрат.

Экономический анализ потребовался для оценки ФДТ как новой медицинской технологии лечения злокачественных новообразований в связи с тем, что она продемонстрировала высокую клиническую эффективность, и для доказательства ее дополнительных преимуществ перед традиционными методами надо было провести и стоимостную оценку этого альтернативного метода лечения рака [13].

В онкологии исследования по экономической тематике были начаты еще в 1980-е гг. Они проводились в Московском научно-исследовательском онкологическом институте им. П.А.Герцена Минздрава СССР совместно с НИИ экономики при Госплане СССР, во Всесоюзном онкологическом научном центре АМН СССР, НИИ онкологии им. проф. Н.Н.Петрова Минздрава СССР и др. НИИ [1, 2, 4, 6, 8, 10, 11, 12]. В работах тех лет по экономической оценке лечебных мероприятий учитывались и текущие расходы, и основные фонды лечебных учреждений [10, 11, 12]. Это очень важно учитывать при сравнительной оценке стоимости лечения тем или иным методом. Дело в том, что стоимость оснащения современной операционной, а тем более телегамматерапевтических аппаратов для лучевой терапии, на несколько порядков больше стоимости полупроводникового лазера для ФДТ.

Основоположник ФДТ в США Томас Догерти еще в 1995 г. отметил уникальность ФДТ как в отношении клинической эффективности и простоты выполнения процедуры, так и в отношении стоимости лечения данным методом [14].

По данным английских исследователей из Национального медицинского лазерного центра Великобритании, Лондонского университетского колледжа и госпиталя Национальной службы здоровья [15], ФДТ с фотосенсибилизатором фосканом английского производства у больных с распространенным раком головы и шеи почти в 2 раза дешевле паллиативной химиотерапии (5741

фунт стерлингов против 9924 фунтов) и почти в 3 раза дешевле хирургического лечения. Кроме того, ФДТ обеспечивает в среднем на 129 дней большую продолжительность жизни больных с распространенным опухолевым процессом по сравнению с интенсивным хирургическим лечением, и на 48 дней большую - по сравнению с химиотерапией. По мнению авторов, применение ФДТ вместо паллиативной химиотерапии больных раком головы и шеи в Великобритании дает экономию Национальной службе здравоохранения около 6 млн. фунтов и обеспечивает 184 года сохраненной жизни и полную резорбцию злокачественных опухолей у 140 больных. Авторы утверждают, что если заменить расширенные хирургические операции при раке у всех больных, которым показана ФДТ, это даст экономию около 16 миллионов фунтов, 495 лет спасенной жизни и полную резорбцию злокачественных опухолей у 224 больных.

В отчете Американского эндоскопического общества гастроэнтерологов о рандомизированном многоцентровом исследовании сравнительной эффективности паллиативной эндоскопической ФДТ и лазерной реканализации при распространенном раке пищевода с обтурацией просвета отмечено, что оба метода обеспечивают улучшение состояния больных с регистрацией объективного эффекта воздействия на опухоль, но ФДТ имеет значительно более продолжительный объективный эффект [16]. Оценивая социально-экономическую эффективность ФДТ при обтурирующем раке пищевода, авторы указывают, что стоимость 150 мг фотосенсибилизатора фотофрина II, необходимых в среднем для одного сеанса ФДТ, составляет 4674 доллара, а стоимость световодов (от относительно простого и дешевого до двухпросветного катетера с баллоном и оптическим диффузором) составляет 470-1000 долларов, что сопоставимо со стоимостью ФДТ в предыдущем исследовании.

По нашим данным, ФДТ рака кожи ЛОР-органов характеризуется не только лечебной эффективностью и хорошими косметическими результатами, но и высокой экономической эффективностью. Средняя стоимость ФДТ (использована калькуляция стоимости медицинских услуг на 01.01.2013 г.) почти в 2 раза ниже средней стоимости лазерной фотодеструкции (31617 руб.

против 62590 руб.) и в 3,2 раза ниже стоимости хирургического лечения с пребыванием в стационаре (102410 руб.). Эта разница в стоимости лечения обусловлена, прежде всего, однократностью процедуры ФДТ, выполняемой у большинства больных в амбулаторных условиях, и необходимостью пребывания в стационаре при хирургическом лечении, а также большой стоимостью самой хирургической операции.

В Сибирском центре лазерной медицины (г. Новосибирск) при медико-экономическом анализе вариантов лечения хронической обструктивной болезни легких показано [3], что при комплексном лечении с применением эндобронхиальной ФДТ расходы уменьшились на 65% (с 6000 руб. до 2100 руб. на 1 больного в год) по сравнению с классическим консервативным лечением, а при неспецифической эмпиеме плевральной полости - на 41% (с 3712,5 руб. до 2205 руб.). Если же учесть, что в Сибирском центре лазерной медицины для ФДТ применяли лазерный комплекс с перестраиваемой длиной волны излучения, который использовался для лазерного лечения и других патологий (что значительно снижало расчетные затраты на аппаратное обеспечение ФДТ), то экономия окажется еще более значительной.

Выводы

ФДТ все шире внедряется в повседневную клиническую практику. Этому способствуют ее неоспоримые преимущества перед традиционными методами лечения рака и гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. Окончательным доводом в пользу ФДТ является экономическое обоснование ее применения.

Оценивая значение ФДТ в современной медицине, можно заключить, что при адекватных показаниях к ФДТ опухолей различных локализаций эта технология дает наибольшую лечебную эффективность, наименьший процент рецидивов и высокую экономическую эффективность по сравнению с традиционными методами лечения рака, а антибактериальная ФДТ длительно не заживающих гнойных ран, трофических язв, ожогов, огнестрельных и минно-взрывных ранений имеет большое социально-экономическое значение для военной медицины и медицины катастроф, - возможно, даже большее, чем для онкологии.

Литература

1. Аксель Е.М. Методика расчета «утраченного жизненного потенциала» в связи со смертностью от злокачественных новообразований. Методические рекомендации / Е.М.Аксель, В.В.Двойрин.- М., 1986.- 23 с.
2. Аксель Е.М. Применение метода стандартизации для расчета «утраченного жизненного потенциала» в связи со смертностью от злокачественных новообразований / Е.М.Аксель, В.В.Двойрин // Советское здравоохранение.- 1987.- №10.- С.35-38.
3. Васильев Н.Е. Опыт медико-экономического обоснования новых лазерных технологий в торакальной хирургии / Н.Е.Васильев, А.П.Огиренко // Лазерная медицина.- 2001.- Т.5, вып.1.- С.4-6.
4. Двойрин В.В. Социально-экономическое значение злокачественных новообразований / В.В.Двойрин, Е.М.Аксель // Вестник АМН СССР.- 1985.- №12.- С.54-60.
5. Диагностика и лечение злокачественных новообразований. Клинические протоколы под ред. академика РАМН В.И.Чисова.- М., 2013.- 599 с.
6. Дятченко О.Т. Социально-экономические проблемы противораковой борьбы / О.Т.Дятченко, Н.Я.Шабашова, С.Ю.Кожевников и др. // Общая онкология (руководство для врачей).- Л., 1989.- С.334-352.
7. Омеляновский В.В. Методические проблемы анализа стоимости болезни / В.В.Омеляновский, М.В.Авксентьева, Е.В.Деркач, Н.Д.Свешникова // Медицинские технологии.- 2011.- №1.- С.42-50.
8. Социально-экономические аспекты организации противораковой борьбы / Под ред. Аксель Е.М., Герасименко В.Н., Двойрина В.В. и др. - М.: МЗ СССР, 1990.- 156 с.
9. Старинский В.В. Алгоритмы объемов диагностики и лечения злокачественных новообразований. Методические указания под ред. академика РАМН В.И.Чисова / В.В.Старинский, А.А.Попова, Б.Н.Ковалев, В.К.Зотов.- М., 2002.- 910 с.
10. Странадко Е.Ф. Медико-социальный и экономический эффект противораковых мероприятий / Е.Ф.Странадко, Л.А.Александрова, М.А.Хаджиев // Организация противораковой борьбы. Сборник научных трудов НИИ онкологии и радиологии Казахской ССР.- Алма-Ата, 1988.- С.21-27.
11. Странадко Е.Ф. Медицинская и экономическая эффективность выявления, лечения и реабилитации больных раком желудка и раком шейки матки / Е.Ф.Странадко, В.М.Рутгайзер, М.А.Хаджиев, Л.А.Александрова // Советская медицина.- 1988.- №9.- С.63-67.
12. Странадко Е.Ф. Методика расчета экономической эффективности выявления, лечения и реабилитации онкологических больных / Е.Ф.Странадко, В.М.Рутгайзер, Л.А.Александрова и др. Методические рекомендации.- М., 1987.- 29 с.
13. Странадко Е.Ф. Новая медицинская технология – лазерная фотодинамическая терапия рака и неопухолевых заболеваний. Социально-экономические аспекты // Новая экономика. Инновационный портрет России.– М.: Центр стратегического партнерства, 2014.- С.191-194.
14. Dougherty T.J. Is PDT a useful cancer treatment? // International Photodynamics.- 1995.- Vol.1, №2.- P.1-2.
15. Hopper C. The cost-effectiveness of Foscan mediated photodynamic therapy (Foscan-PDT) compared with extensive palliative surgery and palliative chemotherapy for patients with advanced head and neck cancer in the UK / C.Hopper, C.Niziol, M.Sidhu // Oral Oncology.- 2004.- Vol.40, Issue 4.- P.372-382.
16. Technology Assessment Committee (B.T.Petersen, R.Chuttani, J.Croffie et al.). Photodynamic therapy for gastrointestinal disease // Gastrointestinal Endoscopy.- 2006.- Vol.63, №7.- P.927-932.

**КЛІНІЧНІ ТА СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ НОВОЇ
МЕДИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ – ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ ТА НЕПУХЛИННИХ
ЗАХВОРЮВАНЬ**

Странадко Є.Ф.

ФГБУ «Державний науковий центр лазерної медицини
Федерального медико-біологічного агентства Росії»,
121165 Росія, м. Москва, вул. Студентська, д. 40, буд. 1,
e-mail: seph04@yandex.ru, тел.: +7(917)533-26-88

За останні 20 років сформувалися науково обґрунтовані напрями застосування фотодинамічної терапії (ФДТ) уряді галузей медицини. ФДТ має ряд незаперечних переваг у порівнянні з традиційними методами лікування раку, а при лікуванні хронічної гнійної інфекції (ран, що довгостроково не гояться, трофічних виразок судинної етіології й т. і.) - з звичайною антибактеріальною терапією. У 2002 р. ФДТ вперше включено до стандартів лікування раку в Росії, а з 2013 р. її офіційно розглядають як альтернативний метод лікування більшості локалізацій злоякісних новоутворень. Для остаточного визнання ФДТ новою медичною технологією з перспективою широкого застосування була потрібна оцінка соціально-економічної ефективності методу.

На підставі аналізу вітчизняних і зарубіжних публікацій з комп'ютерних моделей «вартість-ефективність», експертної оцінки та власного досвіду автори прийшли до висновку про те, що вартість ФДТ в 3 рази менше вартості хірургічного лікування аналогічних хворих, у 2 рази менше вартості лазерної фотодеструкції й багатокурсової поліхіміотерапії. Крім того, ФДТ забезпечує в середньому на 129 днів більшу тривалість врятованого життя хворих з розповсюдженим пухлинним

процесом порівняно з інтенсивним хірургічним лікуванням і на 48 днів – у порівнянні з хіміотерапією. При поширеному раку стравоходу з обтурацією його просвіту паліативна ендоскопічна ФДТ виявилася більш ефективною і безпечною в порівнянні з лазерною реканалізацією при цілком порівняній вартості цих методів лікування.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, клінічна ефективність, соціально-економічна оцінка.

CLINICAL AND SOCIAL-ECONOMIC ASPECTS OF APPLICATION OF NEW MEDICAL TECHNOLOGY – PHOTODYNAMIC THERAPY FOR CANCER AND NON-TUMOURAL DISEASES

Stranadko E.Ph.

State Research and Clinical Center for Laser Medicine of Ministry of Public Health of Russia,
121165 Russia, Moscow, Student st, 40-1
e-mail: seph04@yandex.ru, tel.: +7(917)533-26-88

For the last two decades a scientifically-grounded direction on photodynamic therapy (PDT) application in oncology and in several other medical spheres has been developed. If to compare with traditional techniques for treating cancer, PDT has a number of indisputable advantages. PDT has also some advantages in treating chronic purulent infection (unhealing wounds, trophic ulcers of vascular etiology, etc.). In 2002 for the first time PDT was included into standard registers for treating malignant neoplasms in Russia, and since 2013 PDT has been regarded officially as one of alternative techniques for malignant neoplasms treatment. To finally accept PDT as a new medical technology with a perspective of wide practical application a social-economic assessment of this technique effectiveness is required.

On analyzing Russian and foreign publication with computerized models “price-effectiveness”, expert conclusion and own experience, the authors came to the conclusion that PDT costs 3 folds less than surgical treatment of similar patients; it is 2 times less expensive than laser photodestruction and multicourse polychemotherapy. Besides, in average, prolongs life of patients with an extensive tumoural process for 129 days more as compared to intensive surgical treatment and for 48 days more as compared to chemotherapy. In patients with an extensive esophageal cancer and esophageal obstruction palliative PDT is objectively more effective and safe as compared to laser recanalization at the same cost of this methods of cancer treatment.

Keywords: photodynamic therapy, clinical effectiveness, social-economic assessment.

РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

● **ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА**

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ

Байбеков И.М., Пулатов Д.Т.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ АППАРАТА
«БАРВА–ФЛЕКС/СИК» НА МОРФОЛОГИЮ ДУОДЕНАЛЬНЫХ ЯЗВ
В АСПЕКТЕ ПРОФИЛАКТИКИ ИХ ПРОБОДЕНИЯ**

Байбеков И.М., Хашимов Ф.Ф.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НА КОЖУ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ
И ЭРИТРОЦИТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ ЛАЗЕРОВ И СВЕТОДИОДОВ ПРИ
ЛЕЧЕНИИ УГРЕЙ**

Бондаренко Л.А., Сотник Н.Н., Козак В.А.

**МОЖНО ЛИ РАССМАТРИВАТЬ СВЕТ В ТЕМНОЕ ВРЕМЯ СУТОК
КАК СТРЕССОРНЫЙ ФАКТОР?**

Кузнецов К.А., Пасюга В.Н., Магда И.Ю., Казанский О.В.,
Иванченко Д.Д., Колчигин Н.Н., Шкорбатов Ю.Г.

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ
УЛЬТРАШИРОКОПОЛОСНОГО ИМПУЛЬСНОГО ОБЛУЧЕНИЯ
НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

Посохов Н.Ф., Чухраев Н.В., Горбунов О.В., Коробов А.М., Михайлов А.И.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА
ПОД ВЛИЯНИЕМ КРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДОВ
И ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

Куцевляк В.Ф., Пушкарь Л.Ю., Северин Л.В., Велигоря И.Е.,
Войда Ю.В., Бирюкова С.В., Коробов А.М., Пономарев Г.В.

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
(ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO)**

● —
Долинский Г.А., Самченко Ю.М., Пасмурцева Н.А.,
Полторацкая Т.П., Ульберг Э.Р., Кислухина М.А., Гамалія Н.Ф.

**ФОТОБАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО
ГИДРОГЕЛЕВОГО НАНОКОМПОЗИТА С МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ**

● —
Радченко О.С., Степура Л.Г., Горбенко К.І., Гамалія М.Ф.

**ОПОСЕРЕДКОВАНА МЕТИЛЕНОВИМ СИНИМ ФОТОДИНАМІЧНА ІНАКТИВАЦІЯ
МУЗЕЙНОГО ТА КЛІНІЧНОГО ШТАМІВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ АППАРАТА «БАРВА–ФЛЕКС/СИК» НА МОРФОЛОГИЮ ДУОДЕНАЛЬНЫХ ЯЗВ В АСПЕК- ТЕ ПРОФИЛАКТИКИ ИХ ПРОБОДЕНИЯ

Байбеков И.М., *Пулатов Д.Т.

АО «Республиканский специализированный центр хирургии им. академика В.Вахидова»
Министерства здравоохранения Республики Узбекистан,
100115 Узбекистан, г. Ташкент, ул. Фархадская, 10,
e-mail: baibekov@mail.ru;

*Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи

На основании морфологического изучения дуоденальных язв установлены структурные основы их прободения. Исследовано влияние светодиодного излучения на патоморфоз дуоденальных язв. Установлено, что локальная фототерапия с использованием матричного аппарата «Барва-Флекс/СИК» (длины волн излучения 470 нм и 940 нм) увеличивает относительную объемную долю фибробластов и соединительно-тканых волокон, снижает относительную объемную долю бесклеточных зон, что способствует укреплению стенок язв и предупреждению их прободения.

Ключевые слова: дуоденальные язвы, морфология, светодиодное излучение, профилактика прободения.

Современную медицину трудно представить без применения излучения лазеров для лечения и диагностики. В последние годы для этих целей все шире используется некогерентное излучение светодиодов (Light Emitted Diode – LED). По своей медико-биологической эффективности оно вполне сопоставимо с действием низкоинтенсивного лазерного излучения. Существенными преимуществами светодиодов являются компактность, долговечность, простота эксплуатации и невысокая стоимость, возможности сочетания излучения с разной длиной волн, воздействия на большие площади поверхности тела и т. д. [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Результаты изучения LED-технологий влияния на биологические объекты, в том числе в космосе, позволили FDA (Food and Drug Administration) США одобрить их применение в медицине [10, 11, 16, 17].

Известно, что низкоинтенсивное лазерное излучение широко используется в комплексном лечении язвенной болезни путем наружного (чрескожного) и эндоскопического воздействия [4, 5]. Влияние светодиодного излучения на хронические дуоденальные язвы пока не исследовано, как и структурные особенности прободных дуоденальных язв.

Цель работы – изучить методами морфометрии структурные особенности прободных дуо-

денальных язв и влияние на патоморфоз последних светодиодного излучения фотонных матриц «Барва–Флекс/СИК».

Материал и методики исследования

Под наблюдением находились 46 пациентов с дуоденальными язвами в возрасте 24-45 лет (34 мужчины, 12 женщин). С помощью световой микроскопии и стереоморфометрии исследованы структурные особенности прободных (20 случаев) и неосложненных (26 случаев) язв. Все прободные язвы (ургентные осложнения) подвергались оперативному вмешательству, как правило - ушиванию язвы. В 8 случаях прободных и в 12 случаях неосложненных язв изучалось влияние на их патоморфоз светодиодного излучения. Пациенты с прободными язвами начинали получать сеансы фототерапии на другой день после операции, а с неосложненными язвами - после обращения в поликлинику или поступления в стационар и проведения эндоскопии.

Светодиодную фототерапию осуществляли с помощью гибких фотонных матриц А.М.Коробова - В.А.Коробова «Барва–Флекс/СИК» с 12 синими (длина волны излучения 470 нм) и 12 инфракрасными (длина волны 940 нм) светодиодами. Выходная мощность излучения каждого светодиода – 5 мВт. Матрицу (в чехле из тонкого полиэтилена) прикла-

дывали к поверхности кожи эпигастральной области. Ежедневные сеансы фототерапии (продолжительность каждого - 7-10 мин.) проводили в течение 5-7 дней. При этом сеансовая плотность дозы излучения составляла около 1,25 Дж/см². Лечение излучением светодиодов проводили на фоне общепринятой противоязвенной терапии фамотицином (квamatелом).

Биоптаты для морфологического исследования получали во время дуоденоскопии с помощью фиброскопа - до операции и после курса фототерапии. При этом проводили и визуальную эндоскопическую оценку дуоденальных язв.

При стереоморфометрической оценке язв учитывали наличие в их стенках и периульцерозных зонах так называемых микроколлекторов, являющихся структурной основой персистенции язв (см. открытие «Явление инфильтрации желудочного сока через язвенный дефект в стенке желудка и двенадцатиперстной кишки у больных язвенной болезнью», приоритет от 6.02.1991 №ОТ-12119). Для морфологической идентификации микроколлекторов пациентам перорально за 30-40 мин. до операции вводился маркер – активированный уголь. Биоптаты фиксировали в 12% растворе формалина на фосфатном буфере. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Г-Э в подписях к рисункам).

Светооптические исследования проводили с использованием лабораторного микроскопа Axioscop 40 – Zeiss, сопряженного с цифровой камерой и компьютером.

Стереоморфометрические измерения выполняли по методу Г.Г.Автандилова [1], модифицированному и адаптированному для морфометрии объектов с экрана монитора компьютера, для чего на прозрачную пленку были нанесены метки, а для изучения дискретных структур – точки в количестве 100 на каждую ячейку. Для изучения линейных структур линейка объект–микрометра ОМО с длиной шкалы 1,000 мм и ценой деления 0,01 мм была спроецирована на пленку. Размеры пленки соответствовали изображению на экране монитора. Измерения проводили при проецировании морфологического объекта на экран.

Все микрофотографии подвергались обработке с сохранением данных на компьютере. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы BS Statistica, а также прикладных программ Exel Office Microsoft - Windows XP Professional.

Результаты и их обсуждение

Проведенные морфологические исследования подтвердили наличие микроколлекторов у всех пациентов с неосложненными и прободными ду-

оденальными язвами. Как видно на рис. 1, частицы введенного маркера располагались в просветах коллекторов.

Количественные результаты исследования представлены в табл. 1.

Стереоморфометрическое изучение прободных язв выявило существенные отличия в относительной объемной доле лимфатических сосудов: здесь она была почти в 2,8 раз больше, чем в неосложненных. В стенках прободных язв значительно увеличивается по сравнению с несложненными язвами относительная объемная доля межклеточного вещества (бесклеточных зон, которые представляют собой скопления трансудата) и более чем в 2 раза уменьшается относительная объемная доля фибробластов (табл. 1, рис. 2, 3).

Можно предположить, что наличие микроколлекторов, высокая относительная доля бесклеточных зон, лимфатических капилляров и особенно снижение доли фибробластов являются структурной основой развития у этой группы пациентов прободений.

Курс фототерапии неосложненных дуоденальных язв матрицами «Барва–Флекс/СИК» приводит к существенным изменениям относительной объемной доли фибробластов, лимфатических капилляров, микроколлекторов и межклеточного вещества относительно уровней, имевших место до светодиодного облучения. Относительная объемная доля лимфатических капилляров снижается после фототерапии в 3,6 раз, доля межклеточного вещества - в 1,5 раз. В 1,2 раза уменьшается и доля микроколлекторов. При этом отмечается существенное увеличение (более чем в 3 раза) относительной объемной доли фибробластов (табл. 1., рис. 4, 5).

Существенное влияние светодиодная фототерапия оказывает и на морфологию прободных язв. Ее сеансы приводят к значительному возрастанию относительной объемной доли фибробластов, снижению доли лимфатических капилляров и межклеточного вещества по сравнению с прободными язвами, не подвергнутыми светолечению (табл. 1).

Отмечаются и существенные изменения в патоморфологии дна язв - в так называемых зонах Ашкенази. Современные авторы в зоне фибриноидного некроза выделяют два слоя, из которых лишь поверхностный является некротическим [5].

После курса фототерапии дно язв очищается от детрита и поверхностного слоя некроза, под зоной фибриноида некротические массы практически не определяются, а глубина зоны экссудации уменьшается (рис. 4). Существенные

Таблица 1

Клеточный состав зон фибриноидного некроза и грануляционной ткани краев дуоденальных прободных язв и периаульцерозных зон (в относительных объемных долях - %)

Клеточный состав стромы	Неосложненные язвы		Прободные язвы		
	Пациенты, не получавшие фототерапию (n = 14)	Пациенты после курса фототерапии (n = 12)	Пациенты, не получавшие фототерапию (n = 12)	Пациенты после курса фототерапии (n = 8)	
Плазмоциты	8,1±0,2	5,1±0,2*	8,2±0,3	6,2±0,3	
Лимфоциты	8,9±0,3	6,8±0,3*	8,4±0,2	7,4±0,2	
Тучные клетки	2,4±0,1	2,0±0,1	2,6±0,1	2,2±0,1	
Эозинофилы	5,1±0,2	4,1±0,2	4,4±0,2	4,2±0,2	
Сегментоядерные нейтрофилы	1,8±0,1	1,4±0,1	1,6±0,2	1,5±0,2	
Макрофаги	0,8±0,1	0,7±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	
Фибробласты	6,4±0,2	9,6±0,2*	3,1±0,2*	8,2±0,2**	
Сосуды	кровеносные	1,1±0,2	1,1±0,02	1,2±0,02	1,2±0,02
	лимфатические	0,3±0,4**	0,2 ±,03	1,1±0,03*	0,4±0,02**
Микроколлекторы	8,4±0,4	6,2±0,4*	8,6±0,8	6,6±0,8	
Межклеточное вещество	55,4±0,9	45,3±0,8*	69,2±1,0*	49,2±1,0**	
Прочие	1,8±0,1	1,2±0,1	0,9±0,2	0,9±0,2	

* - достоверно по отношению к неосложненным язвам (P<0,05)

** - достоверно по отношению к неосложненным и прободным язвам (P<0,05)

изменения выявляются в зонах грануляционной ткани и рубца. Здесь преобладают фибробласты, волокна и другие клетки соединительной ткани (рис. 6). К зоне рубца непосредственно прилежат структуры сальника в виде скоплений жировых клеток (рис. 6).

Эндоскопическая (визуальная) и клиническая оценка состояния пациентов, получивших курс светодиодной фототерапии, также указывает на ее благоприятный эффект. У 5 пациентов из 12 с неосложненными язвами, получившими фототерапию наряду с традиционным противоязвенным лечением, имело место заживление язвенного дефекта после 7 проведенных сеансов светолечения. Из 14 больных с неосложненными язвами, получившими только медикаментозное лечение в аналогичные сроки, рубцевание отмечено лишь у 2 пациентов.

Эти результаты вполне сопоставимы с ранее полученными данными о влиянии низкоинтенсивного лазерного излучения на фоне медикаментозного лечения на заживление дуоденальных язв, которые позволили высказать предположение о потенцировании лазерным излучением действия медикаментозных средств [4, 5]. Проводя аналогию между действием низкоинтенсивного излучения лазеров и светодиодов, позволительно предположить, что второе из них (в частности,

излучение матрицы «Барва-Флекс/СИК») также обладает способностью потенцировать действие медикаментозных (аллопатических) средств.

Влияние светодиодного излучения с двумя длинами волн на патоморфоз хронических язв можно трактовать как следствие и высокой проникающей способности (преимущественно инфракрасного излучения [10, 11, 16, 17]), и системного действия (преимущественно синего света), опосредованного кожей эпигастрия.

Хотя считается, что синее излучение не проникает глубже кожного покрова [8], оно, по мнению ряда авторов, оказывает выраженное биостимулирующее воздействие на клетки и ткани [7, 8]. С точки зрения возможного механизма влияния синего света на патоморфоз дуоденальных язв важны следующие его эффекты: стимуляция регенерации и микроциркуляции; противовоспалительное, антимикробное и противовирусное действие; гемостатический эффект; влияние на тканевое дыхание [7].

Учитывая многообразие клеточного состава эпидермиса (особенно дермы с многочисленными фотоакцепторами), способность к синтезу соединительнотканью клетками биологических активных веществ [6, 7, 8], резонно высказать предположение о значительном опосредованном влиянии облучения кожи эпигастрия синим све-

том матрицы «Барва–Флекс/СИК» на патоморфоз дуоденальных язв.

Выводы

1. Чрескожное облучение проекции дуоденальных язв с помощью фотонных матриц «Барва - Флекс/СИК» (длина волны синего излучения 470 нм и инфракрасного – 940 нм) оказывает выраженное воздействие на патоморфоз язв.

2. Под влиянием чрескожного воздействия излучения светодиодов происходит очищение дна

язвы от детрита и поверхностного слоя некроза, уменьшаются проявления альтерации и отека.

3. Облучение эпигастральной области матрицами «Барва-Флекс СИК» вызывает, наряду с уменьшением относительной объемной доли бесклеточных зон и тонкостенных лимфатических капилляров, возрастание доли фибробластов, что способствует укреплению стенок язв, периульцерозных зон и служит профилактикой прободения язв.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики в аспектах морфометрии.- М.: Медицина, 1984.- 436 с.

2. Байбеков И.М. Воздействие светодиодного излучения аппарата «Барва–Флекс/СИК» на заживление экспериментальных ран / И.М.Байбеков, А.Х.Бутаев, Ф.Ф.Хашимов и др. // Фотобиология та фотомедицина.- 2013.- №1,2.- С.119-122.

3. Байбеков И.М. Применение светодиодного излучения в комплексном лечении дерматозов и угрей / И.М.Байбеков, А.Ф.Ибрагимов, Ф.Ф.Хашимов // Материалы XXXIX Международной научно- практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии».- Харьков, 2013.- С.17.

4. Байбеков И.М. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. / И.М.Байбеков, Р.Ш.Мавлян-Ходжаев, А.Г.Эрстекис, С.В.Москвин.- Тверь: Триада, 2008.- 256 с.

5. Байбеков И.М. Морфологические аспекты лазерных воздействий (на хронические язвы и печень) / И.М.Байбеков, Ф.Г.Назыров, Ф.А.Ильхамов и др.– Ташкент: Издательство медицинской литературы им. Абу Али ибн Сины, 1996.– 208 с.

6. Владимиров Ю.А. Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного облучения / Ю.А.Владимиров, А.Н.Осипов, Г.И.Клебанов // Биохимия.- 2004.- Т.69, вып.12.- С.103-113.

7. Карандашов В.І. Біологічні ефекти синього світла та перспективи їх використання в практичній медицині // Фотобиологія та фотомедицина.- 2013.- №1,2.- С.98-106.

8. Коробов А.М. Фототерапевтические аппараты Коробова серии «Барва» / А.М.Коробов, В.А.Коробов, Т.А.Лесная.- Харьков: Контраст, 2010.- 176 с.

9. Lesnaya T.A. Immunomodulatory effects of non-monochromatic infrared radiation / T.A.Lesnaya, A.M.Korobov et al. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.- 2012.- Vol.9, August.- Suppl.1.- P.28.

10. Li W.T. Effect of light emitting diode irradiation on proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells / W.T.Li, H.L.Chen, C.T.Wang // Journal of Medical and Biological Engineering.- 2006.- Vol.26, №1.- P.35-42.

11. Li W.T. Red-light emitting diode irradiation increases the proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells / W.T.Li, Y.C.Leu, J.L.Wu // Photomed. Laser Surg.- 2010.- Suppl 1: 2010 S/ 157-65. doi: 10.1089/pho.2009.2540.

12. Posten D.A. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy / D.A.Posten, J.S.Wrone, K.A.Dover et al. // Dermatol. Surg.- 2005.- Vol.31.- P.334-340.

13. Simunovic Z. (Editor) Lasers in medicine science and praxis in medicine, surgery dentistry and veterinary.- Locarno, 2009.- 772 p.

14. Tuner J. The new laser therapy handbook prima book / J.Tuner, L.Hode.- Stockholm, 2010.- 847 p.

15. Vinck E.M. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation / E.M.Vinck, B.J.Cagnie, M.J.Cornelissen et al. // Lasers Med. Sci.- 2003.- Vol.18.- P.95-99.

16. Whelan H.T. NASA light emitting diode medical applications from deep space to deep sea / H.T.Whelan, E.V.Buchmann, N.T.Whelan et al. // Space Tech. & App. Intern. Forum.- 2001.- CP552.- P.35-45.

17. Whelan H.T. The NASA light-emitting diode medical program - progress in space flight and terrestrial applications / H.T.Whelan, J.M.Houle, N.T.Whelan et al. // Space Tech. & App. Internl. Forum.- 2000.- CP504.- P.37-43.

Рисунки к статье
Байбекова И.М., *Пулатова Д.Т.

«Влияния светодиодного излучения аппарата «Барва–Флекс/СИК»
на морфологию дуоденальных язв в аспекте профилактики их прободения»

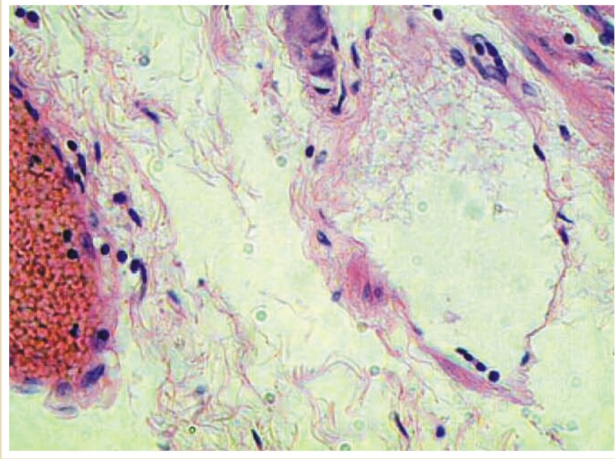


Рис.1. Маркер в межтканевых щелях (коллекторах) и лимфатических капиллярах. Край прободной язвы. Г-Э, увеличение 10x40.

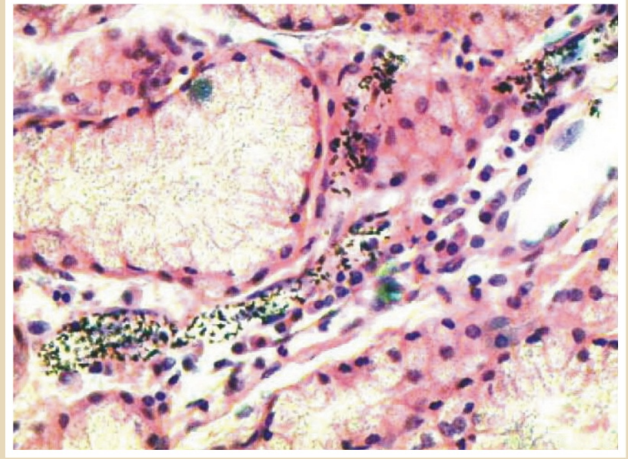


Рис 2. Расширенный лимфатический капилляр. Край прободной язвы. Г-Э, увеличение 10x10.

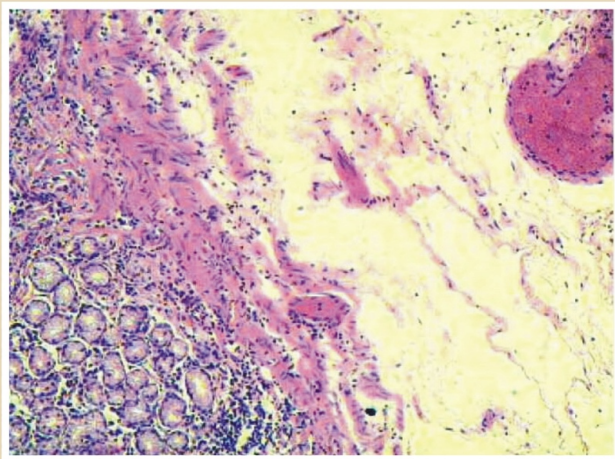


Рис 3. Бесклеточные зоны и расширенные лимфатические капилляры. Край прободной язвы (периульцерозная зона). Г-Э, увеличение 10x10.

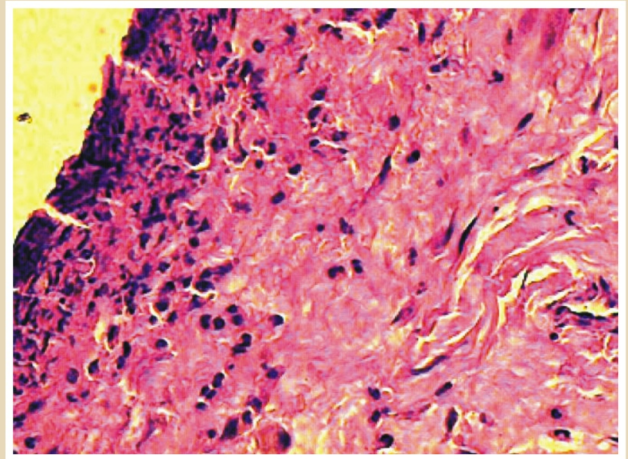


Рис 4. Отсутствие детрита и слоя некроза, уменьшение зоны, увеличение относительной объемной доли фибробластов экссудации после курса фототерапии. Г-Э, увеличение 10x40.

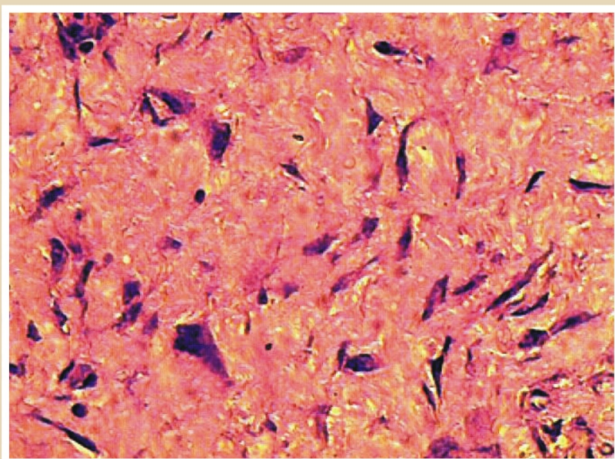


Рис 5. Возрастание относительной объемной доли фибробластов в стенке язвы после курса фототерапии. Г-Э, увеличение 10x40.

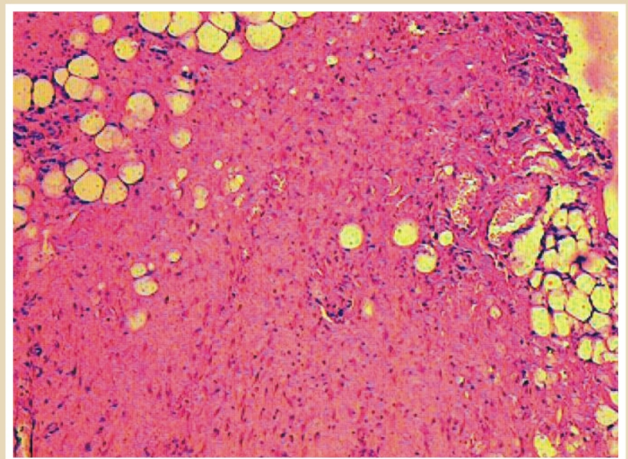


Рис 6. Возрастание относительной объемной доли фибробластов и волокон в зонах грануляционной ткани и рубца язвы после курса фототерапии. Г-Э, увеличение 10x10.

Рисунки к статье
Байбекова И.М., Хашимова Ф.Ф.

**«Сравнительная оценка влияния на кожу, микроциркуляцию
и эритроциты воздействия излучением лазеров и светодиодов при лечении угрей»**

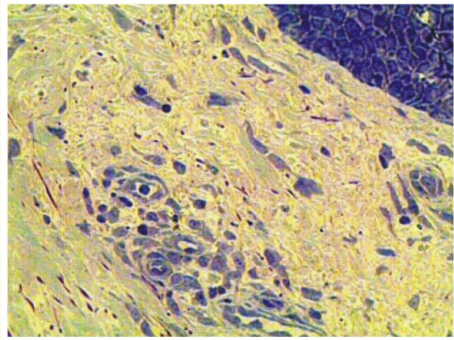


Рис. 1. Эпидермис и верхняя часть дермы из зоны угрей. ПФЭ в просвете сосудов. Световая микроскопия, полутонкий слой, 10x40.

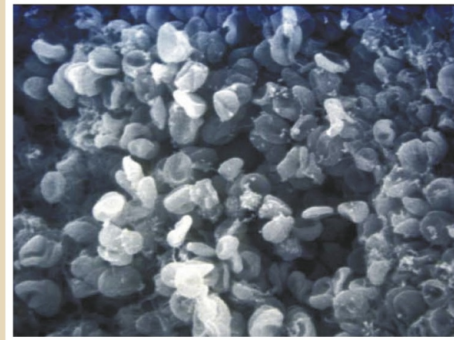


Рис. 2. Эритроциты из зоны угрей, доминирование патологических форм. Сканирующая электронная микроскопия, x1000.

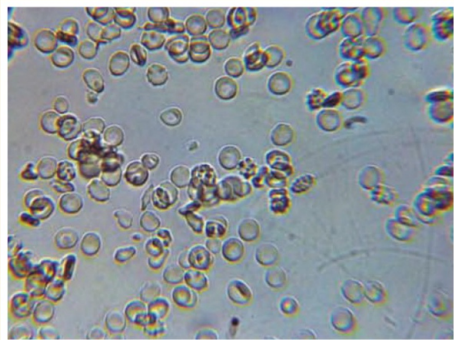


Рис.3. Контроль (норма), кровь из пальца. Экспресс-методика толстой капли, 10x40

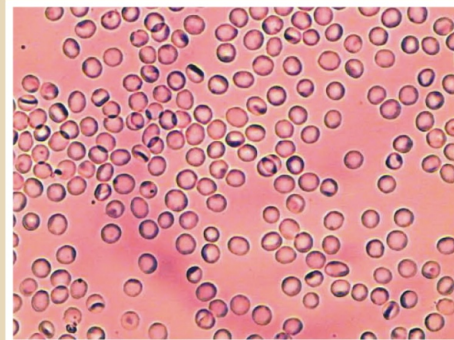


Рис. 4. Угревая болезнь до лечения, кровь из пальца. Доминирование ПФЭ. Экспресс-методика толстой капли, 10x40.

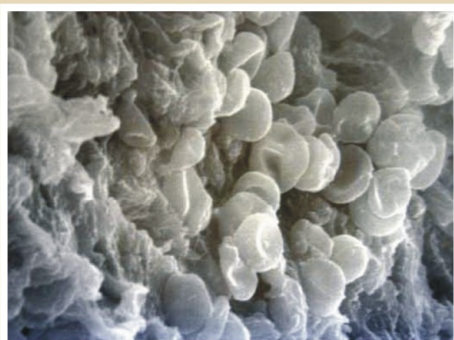


Рис. 5. Снижение доли ПФЭ в крови из зоны угрей после комплексного лечения с лазерной ФТ. Сканирующая электронная микроскопия, x2000

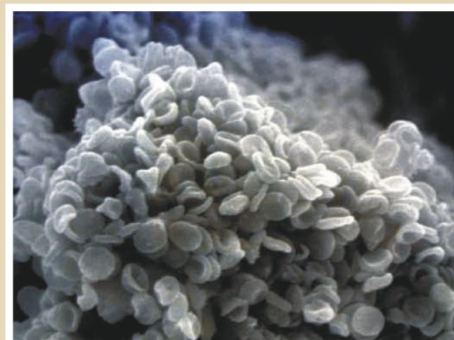


Рис. 6. Снижение доли ПФЭ в крови из зоны угрей после комплексного лечения со светодиодной ФТ. Сканирующая электронная микроскопия, x1000

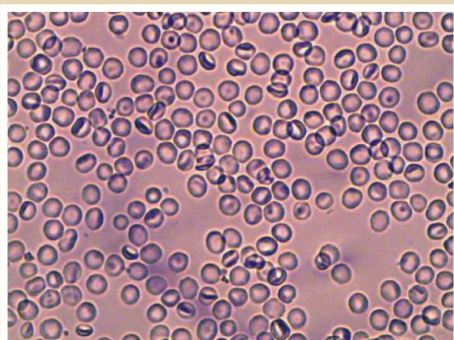


Рис. 7. Значительное уменьшение доли ПФЭ в крови из зоны угрей после медикаментозного лечения. Экспресс-методика толстой капли, 10x40.

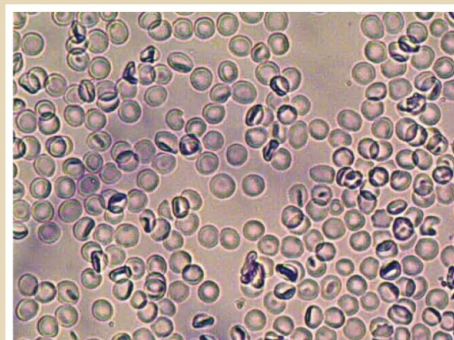


Рис. 8. Значительное уменьшение доли ПФЭ в крови из зоны угрей после комплексного лечения с ФТ матрицей «Барва-Флекс/СИК». Экспресс-методика толстой капли, 10x40.

**ВПЛИВ СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ АПАРАТУ «БАРВА-ФЛЕКС/СІЧ»
НА МОРФОЛОГІЮ ДУОДЕНАЛЬНИХ ВИРАЗОК
В АСПЕКТІ ПРОФІЛАКТИКИ ЇХ ПРОРИВУ**

*Байбеков І.М. *Пулатов Д.Т.*

АТ «Республіканський спеціалізований центр хірургії імені академіка В.Вахідова»

МОЗ Республіки Узбекистан,

100115 Узбекистан, м. Ташкент, вул. Фархадська, 10, e-mail: baibekov@mail.ru;

**Республіканський науковий центр невідкладної медичної допомоги*

На підставі морфологічного вивчення дуоденальних виразок встановлені структурні основи їх прориву. Досліджено вплив світлодіодного випромінювання на патоморфоз дуоденальних виразок. Встановлено, що локальна фототерапія з використанням матричного апарату «Барва-Флекс/СІЧ» (довжини хвиль випромінювання 470 нм і 940 нм) збільшує відносну об'ємну частку фіброblastів і сполучно-тканинних волокон, знижує відносну об'ємну частку безклітинних зон, що сприяє зміцненню стінок виразок і попередженню їх прориву.

Ключові слова: *дуоденальні виразки, морфологія, світлодіодне випромінювання, профілактика прориву.*

**THE INFLUENCE OF LED IRRADIATION OF "BARVA-FLEX/BIR" ON THE MORPHOLOGY
OF DUODENAL ULCERS FROM THE ASPECT OF PERFORATION PREVENTION**

*Baybekov I.M., *Pulatov D.T.*

JSC "Republican Specialized Center of Surgery named after acad. V.Vakhidov"

Ministry of Healthcare of the Republic of Uzbekistan,

100115 Uzbekistan, Tashkent, Farkhadsky Str., 10, e-mail: baibekov@mail.ru;

**Republican Scientific Center of Emergency Medical Care*

On the basis of a morphological study of duodenal ulcers the structural basis of their perforation was founded. The influence of LED radiation pathomorphosis of duodenal ulcers are studied. It was established that local phototherapy using the matrix device "Barva-Flex/SIK" (radiation wavelengths of 470 nm and 940 nm) increases the relative volume fraction of fibroblasts and connective tissue fibers, reduces the relative volume fraction of cell-free zones, which helps to strengthen the walls of ulcers and the prevention of perforation.

Keywords: *duodenal ulcer, morphology, LED radiation, prevention of perforation.*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НА КОЖУ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ И ЭРИТРОЦИТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ ЛАЗЕРОВ И СВЕТОДИОДОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ УГРЕЙ

Байбеков И.М., *Хашимов Ф.Ф.

Республиканский специализированный центр хирургии имени акад. В.Вахидова
Министерства здравоохранения Республики Узбекистан,
100115 Узбекистан, г. Ташкент, ул. Фархадская, 10,
e-mail: baibekov@mail.ru;

*Ташкентская медицинская академия

Результаты применения излучения лазеров и светодиодов в комплексном лечении угревой болезни исследованы методами микроморфометрии (при световой и сканирующей электронной микроскопии) и лазерной доплеровской флоуметрии. Показано, что излучение фотонных (светодиодных) матриц Коробова «Барва-Флекс/СИК» (длины волн 470 и 940 нм) и «Барва-Флекс/ЗИК» (525 и 940 нм) дает не меньший позитивный эффект, чем воздействие красным (длина волны 630 нм) и инфракрасным (830 нм) лазерным излучением.

Излучение светодиодов перспективно для использования в комплексном лечении угрей.

Ключевые слова: угри, излучение, лазеры, светодиоды, кожа, морфология, эритроциты, микроциркуляция крови.

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) с различными длинами волн находит широкое применение в медицине, в том числе и в комплексной терапии угрей [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 17, 23, 24]. В последние годы в дерматологии все более активно используется фототерапия (ФТ) излучением светодиодов (англ. Light Emitting Diode – LED). Светодиоды, обеспечивая высокую эффективность лечения, обладают как источники света рядом преимуществ перед лазерами [4, 7, 10, 21, 22, 24]. Это обусловило интерес к применению для лечения угревой болезни и ее осложнений фотонных (светодиодных) гибких матриц Коробова А. – Коробова В., использующих различные сочетания длин волн излучения.

Угри обычные (*Acne vulgaris*) являются наиболее распространенными поражениями кожи [12, 13, 16, 18, 20,]. Сравнение эффективности ФТ данной патологии с использованием НИЛИ и излучения светодиодов, а также изучение механизмов влияния этих видов лечебного воздействия на кожу и микроциркуляцию крови, ранее не проводились.

В дерматологии для верификации диагнозов широко используется изучение биоптатов кожи. Однако при локализации процесса на открытых участках кожи, особенно на лице, получение биоптатов проблематично. Не этично и иссечение кожи для определения результатов лечения,

что заставляет искать альтернативные методы их оценки. Одним из таких методов является изучение состояния эритроцитов и интенсивности микроциркуляции крови в области поражения кожи [3, 5]. В литературе отсутствуют данные об оценке эффективности лечения угревой болезни с помощью комплексного изучения эритроцитов из области патологических элементов кожи с использованием экспресс-метода толстой капли и состояния микроциркуляции кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии.

Это определило **цель настоящего исследования:** дать сравнительную оценку влияния лазерной и светодиодной ФТ угревой болезни на патоморфоз кожи, микроциркуляцию крови и форму эритроцитов.

Материал и методики исследования

Под наблюдением находились 148 пациентов с угревой болезнью (98 мужчин и 50 женщин в возрасте от 16 до 34 лет). У 52 пациентов угревая сыпь локализовалась в области лица и шеи; у 30 больных процесс носил распространенный характер с поражением лица, шеи, предплечий, кожи груди и спины. У остальных пациентов единичные угри локализовались как на открытых участках кожи, так и на предплечьях и спине. Давность угревой болезни составляла от 1 года до 3 лет.

Традиционное медикаментозное лечение включало антибиотики, витамины, энтеросорбенты. Кроме этого, 56 пациентов получали локальную ФТ: 28 – лазерным излучением и 28 – излучением светодиодов.

В первом случае на зону угрей воздействовали НИЛИ от одной из двух головок лазерного аппарата «Матрикс–ВЛОК» - КЛ–ВЛОК–ИК (длина волны инфракрасного НИЛИ 830 нм, выходная мощность - 35 мВт) и КЛ–ВЛОК–М (длина волны красного НИЛИ - 630 нм, что близко к излучению гелий-неонового лазера, выходная мощность - 8 мВт).

Светодиодную ФТ осуществляли с помощью гибких фотонных матриц Коробова А. – Коробова В., которые были оснащены 12 синими (длина волны излучения 470 нм, «Барва–Флекс/СИК») или 12 зелеными (длина волны 525 нм, «Барва–Флекс/ЗИК») светодиодами. Кроме цветных, обе матрицы имели также по 12 инфракрасных (длина волны 940 нм) светодиодов. Выходная мощность излучения каждого светодиода – 5 мВт. Матрицу прикладывали к поверхности пораженной кожи; при этом для предупреждения инфицирования светодиодов на матрицу надевали чехол из тонкого полиэтилена.

Ежедневные сеансы ФТ (продолжительность каждого сеанса - 5-7 мин.) проводили в течение 10 дней. При этом сеансовые плотности дозы энергии лазерного и светодиодного излучений были сопоставимы - около 1,25 Дж/см².

Микроморфометрия кожи. Для световой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии биоптаты кожи, полученные с добровольного согласия пациентов, обрабатывали общепринятыми методами [15] и изучали в электронном микроскопе Hitachi-S405. Изображения фотографировали с экрана монитора с помощью цифровой камеры Canon.

Для приготовления полутонких срезов биоптаты сразу же после иссечения фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,1М фосфатном буфере рН 7,4 в течение 2-12 часов, промывали в фосфатном буфере, дофиксировали 1% раствором четырехоксида осмия и после обезживания в спирте-ацетоне заливали в смесь эпона и аралдита. С полученных блоков на ультрамикротоме Ultracut (Reichert Yong) готовили полутонкие срезы (1 мкм) и окрашивали 1% раствором метиленового синего - фуксина.

Микроморфометрия крови. Для изучения форменных элементов крови использовалась экспресс-методика толстой капли (ЭМТК, см. Патент Узбекистана «Способ определения форм эритроцитов» №МКИ 6А61В10/00, программа «Экспресс диагностика форм эритроцитов» №ED-5-05). Для этого 2 капли крови фиксировали 3-4 мин. в 1 мл 2,5% раствора глутарового альдегида. Затем на предметное стекло помещали каплю фиксированной крови.

На нее горизонтально опускали покровное стекло и исследовали с помощью светового микроскопа, снабженного цифровой фотокамерой.

Подсчет соотношения нормальных эритроцитов (в виде двояковогнутых дисков – дискоцитов) и их патологических форм (ПФЭ - стоматоцитов, эхиноцитов, эритроцитов с гребнем) проводили при увеличении 10x40 при выборке не менее 1000 эритроцитов на каждый этап исследования, с последующей статистической обработкой с использованием программы «ANOVA».

Светооптические исследования проводились с использованием микроскопов «Биолам - И2» и Axioscop 40 (Zeiss). Микрофотографии получали с помощью микроскопа Axioscop 40, сопряженного с цифровой камерой, с сохранением данных в компьютере.

Микроциркуляция крови. Наиболее достоверным и доступным методом оценки микроциркуляции, особенно в коже, в настоящее время является лазерная доплеровская флоуметрия [9, 11, 19]. В нашем исследовании лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) проводилась при помощи аппарата ЛАКК-01 с одноканальным анализатором («Лазма», Россия), сопряженного с персональным компьютером Pentium-IV. Источник диагностического излучения аппарата - гелий-неоновый лазер (длина волны 0,63 мкм, мощность 25 мВт).

Контрольную группу при исследованиях кожи и крови составили 8 здоровых добровольцев.

Результаты проведенного комплексного лечения угревой болезни оценивались, помимо методов ЭМТК (состояние эритроцитов) и ЛДФ (микроциркуляция крови), также визуально и пальпаторно при клиническом обследовании пациентов.

Результаты и обсуждение

Микроморфометрия кожи. Светооптические исследования показывают, что особенностью угревых комедонов являются выраженные изменения со стороны кровеносных сосудов и доминирование в них ПФЭ. Причем значительная масса эритроцитов располагается экстравазально – рис. 1. Возможно, что распад ПФЭ приводит к выходу железосодержащих пигментов, определяющих темную окраску комедонов.

Исследования биоптатов из области угрей с помощью сканирующей электронной микроскопии полностью подтверждают результаты световой микроскопии (рис. 2).

Микроморфометрия крови. В крови, полученной из зоны угрей, имеется большая доля ПФЭ: стоматоцитов, эритроцитов с гребнем, эхиноцитов и др. необратимых форм (рис. 1, 2; табл. 1). Исследования периферической крови, полученной из пальца, показали, что у пациентов с угревой болезнью в крови также присутствует боль-

шая доля ПФЭ - преимущественно стоматоцитов (рис. 3, 4; табл. 1). В норме же доминирующей формой эритроцитов являются дискоциты.

Оценка крови, полученной как из пальца, так из зоны угрей после проведенного медикаментозного лечения, показала выраженную тенденцию к нормализации соотношения ПФЭ и дискоцитов (рис. 7; табл. 1). При использовании в комплексном лечении лазерной ФТ эти сдвиги более выражены (рис. 5, табл. 1).

Аналогичные сдвиги в соотношении дискоцитов и ПФЭ в крови, взятой из области угрей и из пальца, имеют место и при применении для местной ФТ излучения светодиодов матриц Коробова «Барва-Флекс/ЗИК» и особенно «Барва-Флекс/СИК» (рис. 6, 8, табл. 1).

Известно, что сдвиги в соотношении дискоцитов и ПФЭ в крови обуславливают выраженные изменения ее микроциркуляции [3, 5, 8], поскольку состояние последней определяется не только структурно-функциональным статусом сосудистого ложа, особенно микрососудов, но и морфологическими особенностями эритроцитов. Форма последних в виде двояковогнутого диска обеспечивает адекватность микроциркуляции, позволяя эритроцитам благодаря обратимой деформации дисков проходить через капилляры, диаметр которых меньше диаметра эритроцитов.

Микроциркуляция крови. Нами впервые проведены комплексные исследования формы эритроцитов и состояния микроциркуляции крови при угревой болезни и различных ее комплексного лечения. Показано (табл. 2), что при угревой болезни отмечаются нарушения микроциркуляции крови в коже пальца, а особенно в области локализации угрей.

Показатель $A_{\max CF}/A_{\max LF}$, отражающий интенсивность артериального кровотока, снижается в зоне угрей более чем в 3 раза относительно уровня нормы. Показатель $A_{\max HF}/A_{\max LF}$, отражающий интенсивность венозного кровотока, уменьшается более чем в 2 раза, а ИЭМ (индекс эффективности микроциркуляции) - в 2 раза по сравнению с контролем.

Существенно снижается и параметр М, интегрирующий показатели средней скорости движения эритроцитов, капиллярного гематокрита и числа функционирующих капилляров. Колебание скорости движения эритроцитов отражает параметр Σ , который также снижается в коже области угрей в 2 раза; значительное уменьшение демонстрирует здесь и параметр K_v , отражающий вазомоторную активность микрососудов (табл. 2).

Проведенное исследование показало, что угревая болезнь сопровождается не только структурными изменениями самой кожи в области поражения, но и выраженными нарушениями в соотношении между числом дискоцитов (нормальных эритроцитов) и ПФЭ. Такие нарушения отмечаются не только в крови, полученной из зон патологически измененной кожи, но и в периферической крови, полученной из пальца. Это указывает на то, что угревая болезнь, как и другие поражения кожи, является системным заболеванием.

В комплексном лечении угревой болезни впервые использована фототерапия излучением светодиодов гибких матриц «Барва-Флекс/СИК» и «Барва-Флекс/ЗИК». Оценка эффекта этих воздействий по соотношению дискоцитов и ПФЭ крови из зоны угрей и из пальца, а также по параметрам микроциркуляции, показала высокую эффективность ФТ излучением светодиодов, особенно матрицы «Барва-Флекс/СИК». Это подтвердили и визуальные наблюдения состояние пораженной угрями кожи.

Одной из главных проблем лечения угревой болезни являются постугревые рубцы, которые развиваются даже после успешной медикаментозной терапии. При использовании обоих видов ФТ (НИЛИ и излучением LED) развитие постугревых рубцов практически не отмечалось - частота их появления не превышала 2-4%.

Выводы

Морфологическая оценка эритроцитов с помощью ЭМТК показала, что эффективность воздействия излучением светодиодов, особенно синим и инфракрасным (матрица «Барва-Флекс/СИК»), практически не уступает действию лазерной терапии.

Наши наблюдения позволяют полагать, что соотношение дискоцитов и ПФЭ могут служить диагностическим критерием тяжести угревой болезни.

Данные ЛДФ показали, что при использовании медикаментозного лечения отмечается тенденция к нормализации всех параметров микроциркуляции. Использование в комплексном лечении угрей НИЛИ и ФТ светодиодными матрицами «Барва-Флекс/ЗИК» и «Барва-Флекс/СИК» приводит показатели микроциркуляции к уровню контроля.

Все это позволяет считать, что ФТ как с помощью НИЛИ, так и светодиодных матриц должна занять достойное место в комплексном лечении угревой болезни.

Таблиця 1

Соотношение дискоцитов и ПФЭ при угревой болезни до и после лечения с использованием различных методов

Форма эритроцитов	Контроль (норма, n=8)	Кровь из пальца до лечения (n=12)	Кровь из зоны до лечения (n=12)	Кровь из зоны угрей после медикаментозного лечения (n=14)	Кровь из зоны угрей после комплексного лечения с ФТ красным НИЛИ (n=14)	Кровь из зоны угрей после комплексного лечения с ФТ матрицей «Барва-Флекс/ЗИК» (n=14)	Кровь из зоны угрей после комплексного лечения с ФТ матрицей «Барва-Флекс/СИК» (n=14)
Дискоциты	89±1,7%	65±1,4%*	54±1,6%*	70±1,6%	82±1,7%***	84±1,3%***	83±1,0%***
Эхиноциты	4±0,6%	6±1%*	7±1%*	5±1%	5±1%***	4±0,2%***	4±0,2%***
Стоматоциты	3±0,04%	14±0,2%*	19±0,9%*	12±0,2%	4±0,3%***	4±0,1%***	5±0,1%*
Эритроциты с гребнем	2,5±0,01%	13±0,3%*	18±0,4%*	12±0,2%***	8±0,3%***	7±0,2%***	6±0,2%***
Необратимые формы	1,5±0,07%	2±0,2%*	2±0,2%*	1±0,2%***	1±0,2%***	10,1%***	2±0,1%***

Примечания: * - отличие статистически достоверно (P<0,05) по сравнению с контролем; ** - отличие статистически достоверно (P<0,05) по сравнению с показателем до лечения.

Таблиця 2

Показатели микроциркуляции крови при угревой болезни по данным ЛДФ до и после лечения различными методами

Параметры микроциркуляции	Контроль (норма, n=8)		Пациенты с угревой болезнью до лечения (n=24)		После медикаментозного лечения (n=28)		После комплексного лечения с ФТ матрицей «Барва-Флекс/СИК» (n=14)		После комплексного лечения с ФТ матрицей «Барва-Флекс/ЗИК» (n=14)	
	Кожа пальца	Кожа лица	Кожа пальца	Кожа зоны угрей	Кожа пальца	Кожа зоны угрей	Кожа пальца	Кожа зоны угрей	Кожа пальца	Кожа зоны угрей
AmaxCF/AmaxB (LF)	0,25±0,1	0,24±0,2	0,2±0,01*	0,08±0,001*	0,22±0,02	0,16±0,02**	0,23**	0,18**	0,23	0,17**
AmaxHF/AmaxB (LF)	0,4±0,01	0,4±0,01	0,3±0,07*	0,2±0,04*	0,3±0,08	0,24±0,06	0,38±0,01	0,34±0,01	0,38±0,01	0,38±0,01
ИЭМ = $A_{LF} / (A_{CF} + A_{HF})$	2,9±0,1	2,8±0,01	2,5±0,03*	1,5±0,02*	2,6±0,04**	2,1±0,01	2,7±0,02	2,2±0,02	2,6±0,02	2,6±0,02
M	16±0,2	14,5±0,3	12,4±0,3*	9,8±0,3*	14±0,2**	12,4±0,2	15,1±0,3	12,9±0,4	15,0±0,3	12,9±0,4
Σ	4,0±0,3	3,8±0,2	2,8±0,1*	1,9±0,03*	3,2±0,1	1,5±0,1	3,5±0,2	3,6±0,1	3,6±0,2	3,5±0,1
Kv	18,6±0,5	19±0,5	14,±0,4*	10,0±0,4*	16±1,0	12±0,5	16±0,4	14,0±0,3	16±0,4	14,0±0,3

Примечания: * - отличие статистически достоверно (P<0,05) по сравнению с контролем; ** - отличие статистически достоверно (P<0,05) по сравнению с показателем до лечения. Расшифровку параметров микроциркуляции см. в тексте.

Литература

1. Байбеков И.М. Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии / И.М.Байбеков, А.Х.Касымов, В.И.Козлов и др.- Ташкент: Издательство им. Ибн Сины, 1991.- 223 с.
2. Байбеков И.М. Морфологические аспекты лазерных воздействий (на хронические язвы и печень) / И.М.Байбеков, Ф.Г.Назыров, Ф.А.Ильхамов и др.- Ташкент: Издательство медицинской литературы им. Абу Али ибн Сино, 1996.- 208 с.
3. Байбеков И.М. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях / И.М.Байбеков, Р.Ш.Мавлян-Ходжаев, А.Г.Эрстекис, С.В.Москвин.- Тверь: Триада, 2008.- 256 с.
4. Байбеков И.М. Применение светодиодного излучения в комплексном лечении дерматозов и угрей / И.М.Байбеков, А.Ф.Ибрагимов, Ф.Ф.Хашимов // Материалы XXXIX Международной научно- практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии».- Харьков, 2013.- С.17.
5. Байбеков И.М. Лазерные воздействия на кожу и эритроциты в норме и патологии / И.М.Байбеков, А.Ф.Ибрагимов, М.И.Байбек-Палмос.- LAP Lambert Academic Publishing.- ISBN: 9783659636011.- Saarbrucken, 2014.- P.362.
6. Гейниц А.В. Внутривенное лазерное облучение крови / А.В.Гейниц, С.В.Москвин, Г.А.Азизов.- М.: Триада, 2006.- 144 с.
7. Ибрагимов А.Ф. Оценка эффективности светодиодного излучения в комплексном лечении витилиго / А.Ф.Ибрагимов, И.М.Байбеков // Материалы XXXIX Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии».- Харьков, 2013.- С.38-39.
8. Козинец Г.И. Кровь и инфекция / Г.И.Козинец, В.В.Высоцкий, В.М.Погорелов.- М.: Триада-фарм, 2001.- 182 с.
9. Козлов В.И. Лазеры в диагностике и коррекции расстройств микроциркуляции крови / В.И.Козлов, Г.А.Азизов // Лазерная медицина.- 2011.- Т.15, вып.2.- С.25-26.
10. Коробов А.М. Фототерапевтические аппараты Коробова серии «Барва» / А.М.Коробов, В.А.Коробов, Т.А.Лесная.- Харьков, 2010.- 176 с.
11. Крупаткин А.И. Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови.- М.: Медицина, 2005.- 256 с.
12. Кунгуров Н.В. Патогенетическая терапия угревой болезни: результаты клинического исследования // Журнал клинической дерматологии и венерологии.- 2004.- №3.- С.55-60.
13. Мелихова В. С. Новое слово в лечении акне: клинические исследования 2006-2007 гг. // Косметика и медицина.- 2007.- №6.- С.60-62.
14. Москвин С.В. Основы лазерной терапии / С.В.Москвин, В.А.Буйлин.- М., 2006.- 256 с.
15. Микроскопическая техника (под ред. Саркисова Д.С. и Перова Ю.Л.).- М.: Медицина, 1996.- 543 с.
16. Новиков А.И. Клиническая и патоморфологическая характеристика угревой болезни / А.И.Новиков, В.А.Охлопков, А.В.Губарева // Вестник дерматологии и венерологии.- 2007.- №5.- С.37-40.
17. Плетнев С.Д.. Лазеры в клинической медицине.- М.: Медицина, 1996.-432 с.
18. Cordain L. Acne vulgaris: A disease of western civilization / L.Cordain, S.Lindeberg, M.Hurtado et al. // Archives in Dermatology.- 2002.- Vol.138, №12.- P.1584-1590.
19. Fagrell B. Problems using laser Doppler on the skin in clinical practice.- London-Los Angeles-Nicosia: Med-Orion Publishing Company, 1994.- P.257.
20. Goodman G.J. Acne. Natural history, facts and myths // Australian Family Physician.- 2006.- Vol.35, №9.- P.613-616.
21. Klimova E.M. Nonspecific resistance factors and humoral immunity indicators animals blood with experimental peritonitis after visible light irradiation $\lambda = 595\text{nm}$ / E.M.Klimova, A.M.Korobov, A.I.Bojkov, T.A.Lesnaya et al. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.- 2012.- Vol.9, suppl.1.- P.27.
22. Lesnaya T.A. Immunomodulatory effects of non-monochromatic infrared radiation / T.A.Lesnaya, A.M.Korobov et al. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.- 2012.- Vol.9, suppl.1.- P.28
23. Simunovic Z. Low level laser therapy of acne and scars applied as monotherapy and complimentary treatment modality to tetracycline: a multi centre clinical study on 80 patients with control group / Z.Simunovic, T.Trobonjaca // Lasers in Surg. Med.- 2000.- Suppl 12.- P.7-11.
24. Tuner J. The New Laser Therapy Handbook / J.Tuner, L.Hode.- Stockholm: Prima Books, 2010.- 847 p.

**ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ НА ШКІРУ, МІКРОЦИРКУЛЯЦІЮ І ЕРИТРОЦИТИ
ДІЇ ВИПРОМІНЮВАННЯ ЛАЗЕРІВ ТА СВІТЛОДІОДІВ ПРИ ЛІКУВАННІ ВУГРІВ**

*Байбеков І.М., *Хашимов Ф.Ф.*

*Республіканський спеціалізований центр хірургії ім. акад. Вахідова
Міністерства охорони здоров'я Республіки Узбекистан,
100115 Узбекистан, м. Ташкент, вул. Фархадська, 10, e-mail: baibekov@mail.ru;
Ташкентська медична академія

Результати використання випромінювання лазерів та світлодіодів у комплексному лікуванні вугрової хвороби досліджені методами мікоморфометрії (при світловій та скануючій електронній мікроскопії) і лазерної доплерівської флоуметрії. Показано, що випромінювання фотонних (світлодіодних) матриць Коробова «Барва-Флекс/СІЧ» (довжина хвиль 470 та 940 нм) і «Барва-Флекс/ЗІЧ» (525 нм та 940 нм) дає не менш позитивний ефект, ніж дія червоного (довжина хвилі 630 нм) та інфрачервоного лазерного випромінювання/

Випромінювання світлодіодів є перспективним для використання в комплексному лікуванні вугрів.

Ключові слова: *вугрі, випромінювання, лазери, світлодіоди, шкіра, морфологія, еритроцити, мікроциркуляція крові.*

**COMPARATIVE EVALUATION OF THE LASER AND LED RADIATION EFFECTS ON THE
SKIN, MICROCIRCULATION AND ERYTHROCYTES IN TREATMENT OF ACNE**

*Baibekov I.M., *Hashimov F.F.*

*Republican Specialized Center of Surgery named Acad.Vakhidov,
Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan,
100115 Uzbekistan, Tashkent, Farkhad Str., 10, e-mail: baibekov@mail.ru;
Tashkent Medical Academy

The results of laser and LED radiation using in integrated treatment of acne are investigated by methods of micromorphometrics (with the use of light and scanning electron microscopy) and laser Doppler flowmetry. It was shown, that radiation of photon Korobov's matrixes "Barva-Flex/BIR" (blue and infrared, wavelengths of 470 and 940 nm) and "Barva-Flex/GIR" (green and infrared, wavelengths of 525 and 940nm) are not inferior to the positive effect of phototherapy by red (wavelength of 630 nm) and infrared (830 nm) laser radiation.

LED radiation are promising for use in integrated treatment of acne.

Keywords: *acne, radiation, lasers, LEDs, skin, morphology, erythrocytes, blood microcirculation.*

МОЖНО ЛИ РАССМАТРИВАТЬ СВЕТ В ТЕМНОЕ ВРЕМЯ СУТОК КАК СТРЕССОРНЫЙ ФАКТОР?

Бондаренко Л.А., Сотник Н.Н., Козак В.А.

Лаборатория хроноэндокринологии,
ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я.Данилевского НАМН Украины»,
61002 Украина, г. Харьков, ул. Артема, 10,
тел.: +38(057)700-45-37, e-mail: chrono@bk.ru

У молодых половозрелых кроликов-самцов, которых содержали в условиях круглосуточного освещения, определяли изменение концентрации кортикостерона в крови. Показано, что освещенность в темное время суток даже при ее небольшой интенсивности (30-40 люкс) вызывает повышение уровня кортикостерона в крови относительно исходного (100%) - до 180, 175, 174 и 143% через 1, 3, 7 и 15 суток после начала опыта, соответственно. Это свидетельствует о резкой активации глюкокортикоидной функции коры надпочечников, которую следует рассматривать как реакцию организма на действие стрессора. Вместе с тем через 30 дней после начала круглосуточного освещения у животных наблюдалось уменьшение концентрации кортикостерона в крови относительно как исходного уровня (до 75,8% от последнего), так и более ранних сроков опыта. Это снижение следует рассматривать как начальную стадию истощения адаптационных резервов организма.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что освещение в темное время суток может рассматриваться как стрессорный фактор.

Ключевые слова: *круглосуточное освещение, стресс, надпочечники, кортикостерон.*

В настоящее время пребывание людей в условиях освещения в темное время суток стало настолько привычным, что мало кто на это обращает внимание. Освещению разной интенсивности в темное время суток подвергаются работающие в вечерние и ночные смены, посетители ночных клубов, казино, дискотек и приверженцы иных видов так называемого «ночного отдыха», любители ночных передач по телевидению, лица, проводящие много времени за компьютером (студенты, аспиранты, школьники), а также страдающие бессонницей. Нередко люди (особенно имеющие маленьких детей) спят при свете ночника, считая это нормальным. Ко многим в спальню ночью проникает свет уличного фонаря либо неоновой рекламы, и практически никто не рассматривает свет в ночное время в качестве стрессора.

Известно, что в ответ на действие различных видов стресса первыми реагируют надпочечники [12]. Длительное пребывание в условиях постоянного освещения способствует активации стрессреализующих систем организма [2, 11], в состав которых входят и надпочечники. Глюкокортикоиды, секретирующиеся во время стресса, необходимы для успешной адаптации [5], поэтому их уровень в крови признан одним из основных индикаторов ре-

акции организма на стресс [6, 7, 8, 9, 13]. В наибольшей степени изменения, обусловленные стрессом, проявляются в пучковой зоне коры надпочечников, где происходит продукция глюкокортикоидов [10]. Но в литературе пока остается открытым вопрос, следует ли рассматривать влияние освещения в ночное время на организм как стрессор или нет?

Цель настоящего экспериментального исследования - изучить в динамике влияние круглосуточного освещения на глюкокортикоидную функцию коры надпочечников у кроликов репродуктивного возраста.

Методика исследования

Работа выполнена на 10 молодых половозрелых кроликах-самцах, до начала опыта содержащихся в условиях естественной смены дня и ночи. С началом опыта животных помещали в условия круглосуточного освещения (днем – естественный солнечный свет, ночью – электрический). Освещенность в клетках в ночное время составляла 30-40 люкс.

У кроликов собирали кровь из краевой вены уха для последующего определения концентрации кортикостерона с целью оценки глюкокортикоидной функции коры надпочечников – до

начала опыта, а затем через 1, 3, 7, 15 и 30 дней круглосуточного освещения. Определение кортикоостерона в крови производили флуориметрическим методом [3] при помощи спектрофлуориметра Hitachi-850 (Япония).

Статистическую обработку данных осуществляли методами вариационной статистики с помощью программного обеспечения Statistica 5,0 for Windows, с использованием пакета прикладных программ фирмы Microsoft Excel 5,0. Проверку нормальности распределения данных в группах проводили по Колмогорову-Смирнову. Для вычисления различия между группами использовали t-критерий Стьюдента. Данные представлены как

$$\bar{x} \pm S_x$$

Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты измерений приведены в табл. 1. Из нее видно, что в условиях круглосуточного освещения через 1 после начала эксперимента у кроликов наблюдалось резкое повышение концентрации кортикоостерона в крови - до 180% по отношению к исходному состоянию, условно принятому за 100%.

Через 3 и 7 суток после начала световой экспозиции концентрация циркулирующего в крови кортикоостерона оставалась очень высокой ($P < 0,001$ по сравнению с интактным контролем в обоих случаях), статистически не отличалась от данных предыдущего срока обследования ($P > 0,05$) и составляла 175,1 и 174,3% относительно исходного состояния.

Через 15 суток после начала круглосуточного освещения у этих животных уровень кортикоостерона несколько уменьшался, но, как и раньше, значительно превышал исходное значение, составляя 143% ($P < 0,001$).

Таблица 1

Влияние круглосуточного освещения на изменение концентрации кортикоостерона в крови

Условия эксперимента	Статистические показатели	Концентрация кортикоостерона в крови, нмоль/л
I. Исходное состояние (естественная смена дня и ночи)	$\bar{x} \pm S_x$	208,66 ± 10,21
II. Круглосуточное освещение в течении 1 суток	$\bar{x} \pm S_x$ P_{I-II}	375,76 ± 13,88 < 0,001
III. Круглосуточное освещение в течении 3 суток	$\bar{x} \pm S_x$ P_{I-III} P_{II-III}	365,37 ± 12,08 < 0,001 > 0,05
IV. Круглосуточное освещение в течении 7 суток	$\bar{x} \pm S_x$ P_{I-IV} P_{II-IV} P_{III-IV}	363,64 ± 14,39 < 0,001 > 0,05 > 0,05
V. Круглосуточное освещение в течении 15 суток	$\bar{x} \pm S_x$ P_{I-V} P_{II-V} P_{III-V} P_{IV-V}	298,41 ± 15,44 < 0,001 < 0,01 < 0,01 < 0,01
VI. Круглосуточное освещение в течении 30 суток	$\bar{x} \pm S_x$ P_{I-VI} P_{II-VI} P_{III-VI} P_{IV-VI} P_{V-VI}	158,21 ± 18,75 < 0,05 < 0,001 < 0,001 < 0,001 < 0,001

Из этих данных следует, что постоянное круглосуточное освещение молодых половозрелых кроликов в течение 15 суток вызывает состояние стойкой гиперкортикостеронемии, что характерно для хронического стресса.

В то же время результаты гормональных определений через 30 суток после начала эксперимента указывают на уменьшение концентрации кортикостерона в крови не только относительно предыдущих сроков определения ($P < 0,001$), но даже ниже исходного уровня ($P < 0,05$): уровень кортикостерона упал до 75% по сравнению с контролем.

Таким образом, круглосуточное освещение в ближайшие сроки наблюдения вызывает у кроликов резкое увеличение уровня глюкокортикоидов в крови, что индуцирует мобилизацию энергетического и пластического материала за счет активации процессов глюконеогенеза и катаболизма белка. Значительный подъем уровня кортикостерона в ближайшие сроки наблюдения является показателем масштабных метаболических нарушений, при которых нейроэндокринная система функционирует на пределе своих адаптационных

возможностей. Снижение уровня кортикостерона в крови кроликов через 30 суток содержания в условиях постоянного круглосуточного освещения можно объяснить, во-первых, активацией отрицательной обратной связи и снижением синтеза АКГГ, во-вторых, - повышенной утилизацией гормона в условиях гиперметаболизма, в-третьих, - повышением его обмена в печени. Но вероятнее всего - истощением функциональной активности глюкокортикоидной функции коры надпочечных желез вследствие длительного перенапряжения.

Некоторые авторы рассматривают свет в темное время суток как «световое загрязнение» [1, 4]. Учитывая результаты настоящей работы, представляется возможным сделать заключение о том, что постоянное освещение в ночное время суток следует рассматривать как стрессорный фактор, поскольку в данном случае в ответ на действие стрессора формируется классическая реакция – первоначальное увеличение глюкокортикоидной функции с последующим ее снижением, что вполне соответствует стадиям возбуждения, резистентности и истощения по Г.Селье.

Литература

1. Анисимов В.Н. Световой режим, мелатонин и регуляция суточных ритмов // Мелатонин: роль в организме, применение в клинике.– СПб.: Система, 2007.- 40 с.
2. Бажанова Е.Д. Влияние избегаемого и неизбегаемого стресса на урони катехоламинов в надпочечниках и кортикостерона в плазме крови у молодых и старых крыс / Е.Д.Бажанова, Д.А.Жуков, С.Порта и др. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии.- 2002.- Т.38, №2.- С.181-184.
3. Балашов Ю.Г. Флуориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиологический журнал СССР.- 1990.- Т.76, №2.- С.280-283.
4. Виноградова И.А. Световой режим, препараты эпифиза, старение и продолжительность жизни (экспериментальное исследование) / И.А.Виноградова, В.Н.Анисимов // LAP Lambert Academic Publishing, 2012.- 444 с.
5. Гуралюк В.М. Вплив фотоперіоду на циркадіанні ритми секреції кортикостерону в стресованих щурів // Буковинський медичний вісник.- 2006.- Т.10, №4.- С.37-39.
6. Судаков К.В. Новые аспекты классической теории стресса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 1997.- Т.123, №2.- С.124-129.
7. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу.- М.: НИИФ им. П.К.Анохина РАМН, 1998.- 267 с.
8. Фурдуй Ф. И.Стресс и здоровье.Кишинев : Штиинца, 1990. – 239 с.
9. Черкасова О.П. Одновременное исследование содержания кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона в надпочечниках и плазме крови при остром стрессе / О.П.Черкасова, В.И.Федоров // Проблемы эндокринологии.- 2001.- №1.- С.37-39.
10. Clare P.M. Programming of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the fetal origins of dult disease hypothesis // Eur. J. Pediatr.- 1998.- Vol.157, №1.- P.7-10.
11. Jozsa R. Circadian and extracircadian exploration during day time hours of circulating corticosterone and other endocrine hormones / R.Jozsa, A.Olah, G.Cornelissen et al.// Biomed. Pharmacother.- 2005.- Vol.59, Suppl 1.- P.109-116.
12. Kappel M. The response on glucoregulatory hormones of in vivo whole body hyperthermia // Int. J. Hyperthermia.- 1997.- Vol.13, № 4.- P.413-421.
13. Ulrich-Lai Y.M. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner / Y.M.Ulrich-Lai, F.F.Helmer, M.M.Ostrander et al. // AJP – Endo.- 2006.- Vol.291, №5.- P.E965-E973.

ЧИ МОЖНА РОЗГЛЯДАТИ СВІТЛО В ТЕМНУ ПОРУ ДОБИ ЯК СТРЕСОРНИЙ ФАКТОР?

Бондаренко Л.О., Сотник Н.М., Козак В.А.

Лабораторія хроноендокринології,

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я.Данілевського НАМН України»,
61002 Україна, м. Харків, вул. Артема 10, тел.: +38(057)700-45-37, e-mail: chrono@bk.ru*

У молодих статевозрілих кролів-самців, яких утримували в умовах цілодобового освітлення, визначали зміни концентрації кортикостерону в крові. Показано, що освітлення навіть невеликої інтенсивності (30-40 люкс) у темну пору доби викликає підвищення рівня кортикостерону в крові відносно вихідного (100%) - до 180, 175, 174 і 143% через 1, 3, 7 і 15 діб після початку експеримента, відповідно. Це свідчить про різку активацію глюкокортикоїдної функції кори наднирників, що варто розглядати як реакцію організму на дію стресора. Разом з тим, через 30 днів після початку цілодобового освітлення у тварин спостерігалось зменшення концентрації кортикостерону в крові відносно як вихідного рівня (до 75,8% від останнього), так і більш ранніх термінів дослідження. Це зниження слід розцінювати як початкову стадію виснаження адаптаційних резервів організму.

Отримані дані дають можливість зробити висновок про те, що освітлення в темну пору доби варто розглядати як стресорний фактор.

Ключові слова: *цілодобового освітлення, стрес, наднирники, кортикостерон.*

**WHETHER IT POSSIBLE TO CONSIDER LIGHT IN A NIGHT-TIME
AS A STRESS FACTOR?**

Bondarenko L.A., Sotnik N.N., Kozak V.A.

*SI «V.Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine»,
61002 Ukraine, Kharkiv, Artyoma Str., 10, tel.: +38(057)700-45-37, e-mail: chrono@bk.ru*

At young pubertal male-rabbits whom contained in conditions of the round-the-clock lighting, the concentration of corticosteron in blood was defined. It is shown that light even low intensity (30-40 luxury), included in a night-time, causes increasing of the level of corticosteron in blood relative the initialvalue (100%) to 180, 175, 174 and 143% in 1, 3, 7 and 15 days respectively. This indicates sharp activation of glucocorticoid function of bark of adrenal glands, which may be consider as response of an organism to stress action. However, in 30 days after the beginning of a round-the-clock lighting, a decreasing in the concentration of corticosteron in animal's blood was observed - as rather initial level (to 75,8% relative to it), and the earlier terms of experiment. This decreasing should be regarded as an initial stage of exhaustion of adaptational reserves of organism.

The obtained data give the reasons to consider the lighting in a night-time as a stress factor.

Keywords: *round-the-clock lighting, stress, adrenal glands, corticosteron.*

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ УЛЬТРАШИРОКОПОЛОСНОГО ИМПУЛЬСНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Кузнецов К.А., Пасюга В.Н., Магда И.Ю., *Казанский О.В.,
*Иванченко Д.Д., *Колчигин Н.Н., Шкорбатов Ю.Г.

Научно-исследовательский институт биологии
Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина, г. Харьков, Украина,
e-mail: shckor@univer.kharkov.ua;
*Кафедра теоретической радиофизики
Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина, г. Харьков, Украина,
e-mail: Nikolay.N.Kolchigin@univer.kharkov.ua

Клетки буккального эпителия человека обрабатывали ультраширокополосным импульсным излучением с помощью целевой антенны в течение 1, 10, 100 и 1000 с. Плотность мощности излучения, действовавшего на клетки, варьировала от 10^{-6} до 10^{-2} Вт/см². Облучение приводило к конденсации хроматина в ядрах клеток. Изменение продолжительности облучения существенно не влияло на степень гетерохроматинизации. В случае прерывистого облучения эффекта конденсации хроматина не наблюдалось. Отмечены различия в реакции клеток различных доноров на облучение.

Ключевые слова: гетерохроматин, эухроматин, клеточное ядро, буккальный эпителий, UWB, электромагнитное излучение.

Введение

Считается, что применение при гипертермии злокачественных опухолей ультраширокополосного импульсного излучения (Ultrawideband and Ultrashort Impulse Signals, UWB) дает некоторые преимущества перед узкополосным микроволновым излучением [1]. Однако биологические эффекты UWB пока не исследованы полностью, и продолжается накопление опытных данных.

Ряд исследований у различных экспериментальных животных посвящен изучению последствий воздействия UWB на сердечно-сосудистую и нервную системы, онко- и тератогенез, а также на его генетическую токсичность [3]. Митогенные эффекты UWB были выявлены на гепатоцитах мышей AML-12: установлена достоверная ($p < 0,05$) дозовая зависимость жизнеспособности клеток от облучения.

Использование вестерн-блоттинга лизата гепатоцитов позволило установить повышение содержания белка циклина-А как признак активизации пролиферативных процессов [2]. Было обнаружено отсутствие изменений в росте и жизнеспособности клеток CL-S1 при обработке импульсами UWB с частотой 1 кГц и шириной импульса 10 нс в течение 0,25–3 часа, однако воздействие теми

же импульсами в течении более длительного периода (4–6 часов) привело к значительному увеличению темпов пролиферации [7].

В наших предыдущих исследованиях наблюдались значительная конденсация хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека под влиянием UWB с плотностью мощности 10^{-3} Вт/см² в течение 10 с и восстановление этих изменений через два часа [4].

Состояние хроматина было выбрано как показатель реакции клетки на облучение по следующей причине. Хроматин представляет собой комплекс ДНК и белков и может находиться в клеточном ядре в виде эухроматина – деконденсированной и функционально активной формы, и гетерохроматина – конденсированной и малоактивной. Состояние хроматина может быть оценено цитологическим методом [5] и характеризует клеточный ответ на внешние воздействия. Реакция гетерохроматинизации является характерным неспецифическим ответом клетки на стрессовое воздействие, в частности, в изолированных клетках количество гранул гетерохроматина повышается при действии на клетку неблагоприятных факторов: ультрафиолетового света и света гелий-неонового лазера, микро-

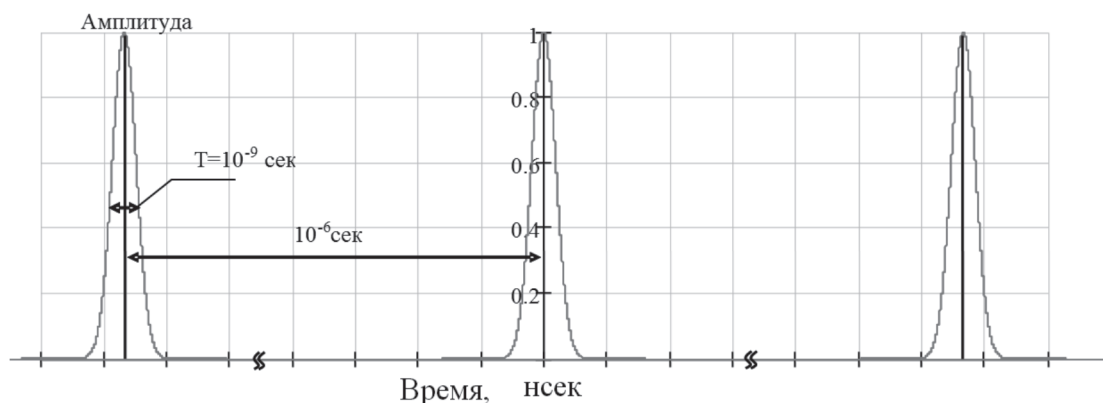


Рис.1. Временная форма сигнала (частота следования импульсов – 1 МГц)

волнового излучения и магнитного поля, с также ряда токсических веществ, например ингибиторов синтеза РНК и белка [6]. Состояние утомления, вызванное физической нагрузкой, также сопровождается повышением количества гранул гетерохроматина в клетках буккального эпителия донора [6]. Клетки буккального эпителия были взяты как экспериментальный объект в наших экспериментах по нескольким причинам. Во-первых, эти клетки обладают крупным ядром (порядка 10 мкм) с хорошо структурированным хроматином и, вследствие этого, удобны для микроскопического исследования, во-вторых, взятие клеток (соскоб тупым стерильным шпателем) совершенно безболезненно и бескровно и, наконец, клетки хорошо переживают вне организма в течение нескольких часов без изменений измеряемого нами показателя.

В настоящей работе мы исследовали эффекты воздействия UWB на клетки буккального эпителия при изменении различных параметров режима облучения – плотности мощности, длительности облучения, а также наличия коротких перерывов в облучении.

Материалы и методы исследований

В качестве экспериментального объекта использовались клетки буккального эпителия человека (клетки слизистой оболочки ротовой полости, выстилающие внутреннюю поверхность щеки). В эксперименте приняли участие 13 доноров-добровольцев, проинформированных о методике взятия клеток эпителия и о целях эксперимента. Клетки собирали с поверхности слизистой щеки тупым шпателем и помещали в 3,03 мМ фосфатный буфер (рН = 7,0) с добавлением 2,89 мМ CaCl₂. В данном растворе клетки способны храниться до 6 часов без изменения состояния хроматина в ядрах.

10 мкл клеток, суспендированных в описанном выше буферном растворе, помещали на по-

кровном стекле на излучающую щелевую антенну генератора UWB с набором разделителей мощности, специально подобранным для облучения клеток.

Генератор формировал последовательность импульсов гауссовой формы (Рис. 1) с амплитудой по напряжению 25 В и длительностью импульса на половине амплитуды 500 пс. Частота повторения импульсов 1 МГц.

Плотность мощности определялась путем экспериментального измерения уровня излученного сигнала на поверхности излучателя с расположенным на нем покровным стеклом, куда впоследствии помещался образец – капля суспензии клеток объемом 10 мкл.

Плотность мощности излучения, действовавшего на клетки, составляла 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ или 10⁻² Вт/см². Поверхностная плотность мощности излучения, используемой в эксперименте, значительно выше уровня напряженности электромагнитного поля в промышленно развитых странах, который может достигать в крупных городах уровня 2,4×10⁻⁷ Вт/м², однако уровень ЭМП в сельской местности значительно ниже – 1,6×10⁻¹⁰ Вт/м² [8]. Клетки подвергали действию непрерывного облучения в течение 1, 10, 100 и 1000 с.

В части опытов на клетки воздействовали UWB с плотностью мощности 10⁻⁴ Вт/см² в течение 10 с, причем облучение клеток производилось с несколькими интервалами: оно прерывалось на равные временные промежутки 1, 2 и 4 раза, с учетом перерывов в облучении общее время обработки клеток составляло 1 мин. или 10 мин. Например, если общее время обработки составляло 1 мин. и прерывалось 1 раз, облучение проводилось 2 раза по 5 с, интервал между облучениями составлял 50 с; если облучение прерывалось 2 раза, проводили 3 облучения в такой последовательности: 3 с, 4 с, 3 с, перерывы между облучениями составляли по 25 с; если облучение пре-

рывалось 4 раза, проводилось 5 облучений по 2 с при паузах между ними по 12 с. Если же общее время облучения составляло 10 мин., а облучение прерывалось 1 раз, проводилось два облучения по 5 с, интервал между облучениями составлял 4 мин. 50 с; если облучение прерывалось 2 раза, проводили 3 облучения в такой последовательности: 3 с, 4 с, 3 с, перерывы между облучениями составляли по 4 мин. 55 с; если же облучение прерывалось 4 раза, проводилось 5 облучений по 2 с при паузах между ними по 2 мин. 27 с.

Подсчет содержания гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах контрольных клеток по методике, описанной ранее [5] производили в клетках, окрашенных орсеином (2 % раствор орсеина в 45 % уксусной кислоте) при увеличении $\times 600$. В клетке определяли значение СГГ, затем определяли среднее значение СГГ в 30 ядрах и стандартное отклонение от среднего [5], затем данные для каждого эксперимента усредняли по трем независимым повторностям, эксперимент проводили в разные дни, то есть в каждом варианте эксперимента исследовали 90 ядер В контроле за время эксперимента (около 2 часов) значимых изменений СГГ не наблюдалось. Пробы облученных клеток окрашивали орсеином с одновременной фиксацией сразу после воздействия UWB. На 10 мкл суспензии клеток брали 10 мкл красителя.

Результаты и обсуждение

В разделе представлены не все полученные результаты, для иллюстрации полученных результатов представлены типичные данные.

Во многих случаях клетки доноров реагировали на воздействие UWB увеличением числа гранул хроматина в ядрах по сравнению с контролем. Типичные данные, полученные при одном из сочетаний условий облучения на клетках 11 доноров, представлены в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что облучение вызывает значительное повышение показателя СГГ в клетках всех обследованных доноров.

В среднем, реакция клеток на облучение UWB развивается преимущественно по типу реакции порогового, триггерного типа. Так, опытные данные,

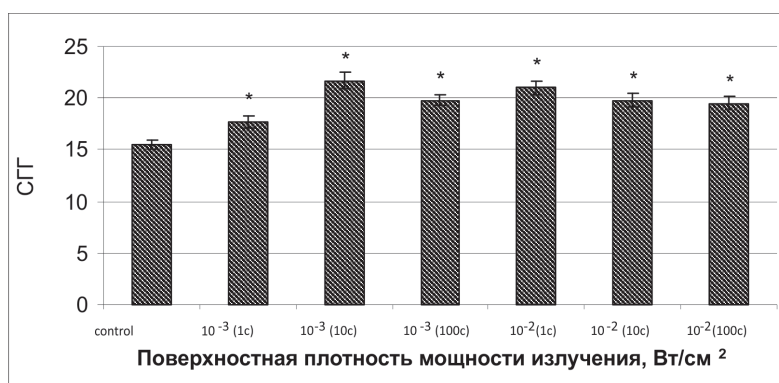


Рис. 1. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора С после воздействия UWB с различной плотностью мощности (10^{-3} и 10^{-2} Вт/см²) и продолжительностью (1, 10 и 100 с). Здесь и на нижеследующих рисунках значимое отличие от контроля ($p > 0,95$) отмечено звездочкой.

полученные на клетках донора С (рис. 1), говорят о том, что при плотности мощности излучения 10^{-2} Вт/см² величина СГГ не зависит от времени облучения, хотя при меньшей интенсивности воздействия такая зависимость имеет место.

С другой стороны, при постоянной продолжительности облучения и различной его интенсивности реакция клеток может начать проявляться, как в случае доноров В и С, лишь начиная с плот-

Таблица 1

Изменение показателя СГГ в клетках буккального эпителия человека после облучения UWB с плотностью мощности 10^{-3} Вт/см² и продолжительностью 10 с.

Донор	Возраст, пол		СГГ, контроль	СГГ, опыт
А	17	женск.	14,5±0,45	21,2±0,67
В	19	мужск.	16,3±0,69	22,6±0,78
С	20	мужск.	15,6±0,49	21,9±0,64
Д	25	мужск.	15,6±0,49	22,9±0,76
Е	26	мужск.	15,8±0,52	17,2±0,68
Ф	35	мужск.	16,8±0,58	22,7±0,69
Г	37	женск.	16,9±0,51	22,0±0,74
Н	43	женск.	16,9±0,58	22,5±0,72
О	50	мужск.	16,4±0,40	22,4±0,60
Р	52	мужск.	16,7±0,60	23,0±0,66
Q	53	мужск.	17,3±0,55	22,0±0,64

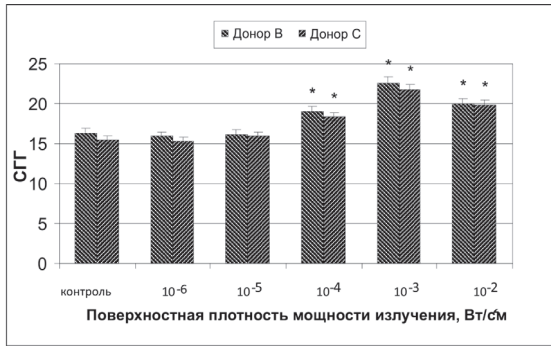


Рис. 2. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток доноров В и С после воздействия UWB с различной плотностью мощности (10^{-6} – 10^{-2} Вт/см²) и продолжительностью 10 с.

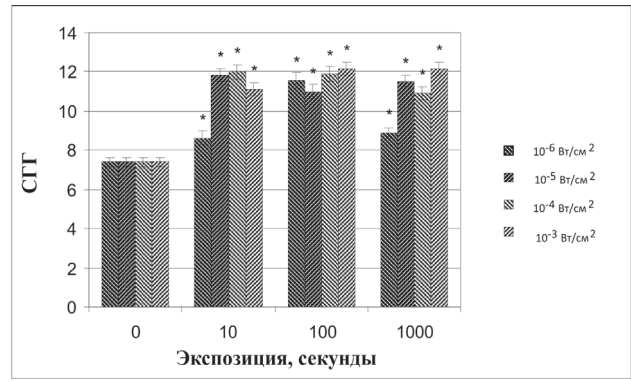


Рис. 3. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора R после воздействия UWB различной интенсивности (10^{-6} – 10^{-3} Вт/см²) и продолжительности (10, 100 и 1000 с).

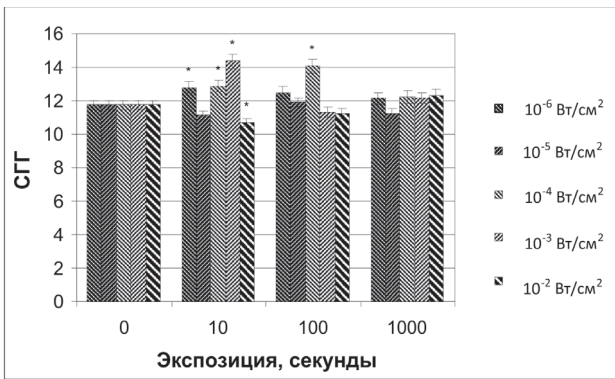


Рис. 4. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора S после воздействия UWB различной интенсивности (10^{-6} – 10^{-2} Вт/см²) и продолжительности (10, 100 и 1000 с).

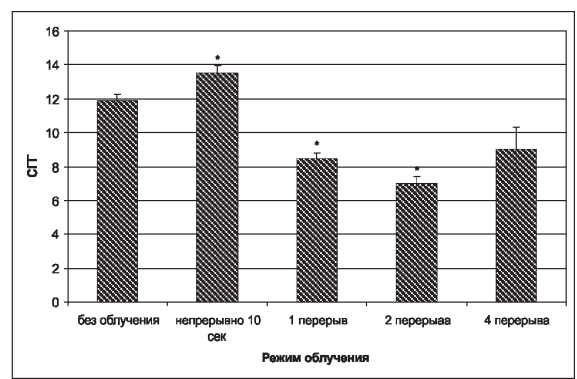


Рис. 5. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора R после воздействия UWB с плотностью мощности 10^{-4} Вт/см² и продолжительностью 10 с. Облучение прерывалось на равные временные промежутки 1, 2 и 4 раза в течение 1 мин.

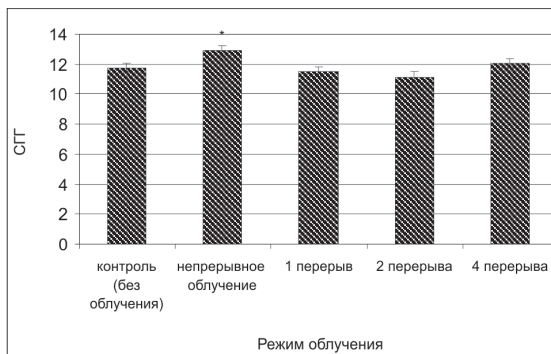


Рис. 6. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора S после воздействия UWB с плотностью мощности 10^{-4} Вт/см² и продолжительностью 10 с. Облучение прерывалось на равные временные промежутки 1, 2 и 4 раза в течение 1 мин.

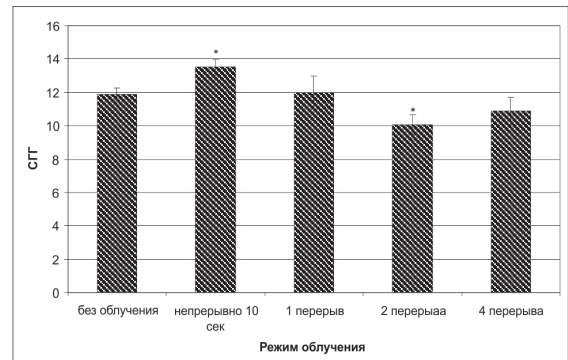


Рис. 7. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора R после воздействия UWB с плотностью мощности 10^{-4} Вт/см² и продолжительностью 10 с. Облучение прерывалось на равные временные промежутки 1, 2 и 4 раза в течение 10 мин.

ности мощности 10^{-4} Вт/см²; при меньшей интенсивности эта реакция отсутствует, и величина СГГ не отличается от уровня контроля (рис. 2).

Вместе с тем нередко реакция клеток на UWB носит индивидуальный характер. Как видно на рис. 3, клетки донора R отреагировали на облучение при всех уровнях плотности мощности от 10^{-6} до 10^{-3} Вт/см². При этом UWB в интервале от 10^{-5} до 10^{-3} Вт/см² вызвало приблизительно одинаковый эффект, а увеличение продолжительности облучения от 10 до 1000 с не привело к значительным изменениям клеточной реакции.

Такие результаты могут быть связаны с «триггерным эффектом» UWB по отношению к некоторым внутриклеточным процессам. Как известно, реакция клеток на неблагоприятные факторы (УФ-излучение, ингибиторы метаболизма и т.п.) связана с формированием гранул гетерохроматина в ядре [6]; клеточная реакция на UWB также может быть связана с неспецифическим стрессовым ответом.

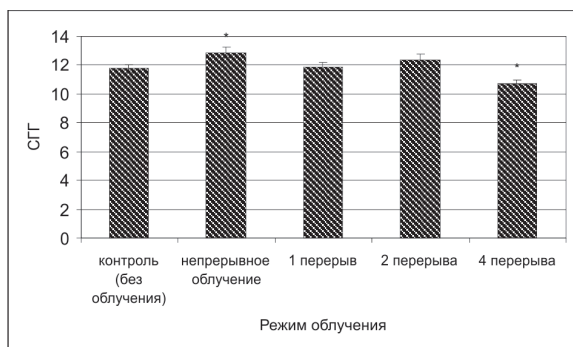


Рис. 8. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в ядрах клеток донора S после воздействия UWB с плотностью мощности 10^{-4} Вт/см² и продолжительностью 10 с. Облучение прерывалось на равные временные промежутки 1, 2 и 4 раза в течение 10 мин.

Клетки донора S также отреагировали на облучение UWB ростом показателя СГГ (рис. 4), но не так, как клетки донора R: это увеличение произошло в случаях 10-секундного облучения с плотностями мощности 10^{-6} , 10^{-4} и 10^{-3} Вт/см², а после облучения в течение 100 с - только при плотности мощности 10^{-4} Вт/см². Примечательно, что наиболее длительное облучение (1000 с) не вызвало значимых изменений клеточной реакции.

Таким образом, количественное и даже качественное проявление клеточных реакций на действие UWB у разных доноров может существенно различаться. При повторных измерениях индивидуальные особенности в реакции клеток каждого донора на облучение сохранялись. Каких-либо корреляций, связанных с возрастом или полом, в

реакции СГГ на облучение мы не наблюдали, хотя сам по себе показатель СГГ в контроле достоверно коррелирует с возрастом донора (коэффициент линейной корреляции между возрастом донора и СГГ в контроле для данных, приведенных в таблице 1 составляет $r=0,77$, уровень достоверности $p<0,05$). Этот результат хорошо согласуется с нашими предыдущими данными о повышении СГГ в ядрах клеток буккального эпителия с возрастом донора [9]. Возможно, обнаруженные нами индивидуальные различия в реакции клеток на UWB облучение связаны с индивидуальной устойчивостью организма к облучению.

На рис. 5–8 представлены данные по прерываемому воздействию UWB на клетки буккального эпителия. В целом, из этих данных можно заключить, что наибольшее влияние на рост показателя СГГ оказывало непрерывное облучение, что также свидетельствует о триггерной реакции клетки на воздействие UWB.

Данные, представленные на рис. 5–8, могут быть интерпретированы следующим образом. Если процесс конденсации хроматина (величина СГГ) связан лишь с непрерывным облучением UWB, то при прерывании облучения конденсация отсутствует, хотя клетки в сумме получают ту же дозу облучения. Это, возможно, связано с быстрой репарацией изменений, вызванных воздействием UWB. Время восстановления клеток после облучения, достаточное для снижения степени конденсации хроматина, составило менее 2,5 с (наименьшая пауза между облучениями в наших экспериментах). Вероятно, этот процесс быстрого восстановления отличается от процесса восстановления клетки после образования «созревших» гранул гетерохроматина при постоянном воздействии UWB. Ранее было установлено, что восстановление последних (обратный переход в эухроматин) после окончания микроволнового облучения занимает около 2 часов [10].

Выводы

Результаты данного исследования подтверждают выводы наших предыдущих экспериментов об индуцировании UWB перехода эухроматина в гетерохроматин (процесс гетерохроматинизации) в ядрах изолированных клеток буккального эпителия человека. Эти изменения связаны, вероятно, с ответом клетки на стресс и с уменьшением биосинтетической активности хроматина. Эффект воздействия UWB на клетку носит триггерный характер и не увеличивается с возрастанием времени облучения. Нижний предел чувствительности клеток к UWB излучению в пределах от 10^{-6} до 10^{-4} Вт/см² при 10-секундной экспози-

ції и реакція на облучення в течение 100 и 1000 секунд в широких пределах падающей мощности излучения различался для клеток разных доно-

ров, что может быть связано с индивидуальной устойчивостью организма к облучению.

Література

1. Converse M. A computational study of ultra-wideband versus narrowband microwave hyperthermia for breast cancer treatment / M.Converse, E.J.Bond, B.D. Van Veen, S.C.Hagness // IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques.– 2006.– Vol.54.– P.2169-2180.
2. Dorsey W.C. Induced mitogenic activity in AML-12 mouse hepatocytes exposed to low-dose ultra-wideband electromagnetic radiation / W.C.Dorsey, B.D.Ford, L.Roane et al. // Int. J. Environ. Res. Public Health.– 2005.– Vol.2.– P.24-30.
3. Seaman R.L. Effects of exposure of animals to ultra-wideband pulses // Health Phys.- 2007.– Vol.92.– P.629-634.
4. Shckorbatov Y.G. Changes in the human nuclear chromatin induced by ultra wideband pulse irradiation / Y.G.Shckorbatov, V.N.Pasiuga, N.N.Kolchigin et al. // Central European Journal of Biology.– 2009.– Vol.4.– P.97-106.
5. Shckorbatov Y.G. He-Ne laser light induced changes in the state of chromatin in human cells // Naturwissenschaften.– 1999.– Vol.86.– P.452-453.
6. Shckorbatov Y. The state of chromatin as an integrative indicator of cell stress // New Developments in Chromatin Research, ed.: N.M.Simpson and V.J.Stewart. Chapter 6.– New York: Nova Science Publishers, Inc., 2012.– P.123-144.
7. Sylvester P.W. Effects of ultra-wideband electromagnetic pulses on pre-neoplastic mammary epithelial cell proliferation / P.W.Sylvester, S.J.Shah, D.T.Haynie, K.P.Briski // Cell Proliferatio.– 2005.– Vol.38.– P.153–163.
8. Estenberg J.I., Augustsson T. Extensive frequency selective measurements of radiofrequency fields in outdoor environments performed with a novel mobile monitoring system. Bioelectromagnetics.– 2014.– 35(3):227-230. doi: 10.1002/bem.21830.
9. Shckorbatov Y.G. Age-related changes in the state of chromatin in human buccal epithelium cells // Gerontology.- 2001.- V.47.- Suppl. 1.-P. 224-225.
10. Shckorbatov Y.G., Pasiuga V.N., Kolchigin N.N., Grabina V.A., Ivanchenko D.D., Bykov V.I., Dumin O.M. Cell nucleus and membrane recovery after exposure to microwaves // Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B.– 2011.- Vol. 65, No. 1/2 (672/673), p. 13–20.

ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ УЛЬТРАШИРОКОСМУГОВОГО ІМПУЛЬСНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА СТАН ХРОМАТИНУ В КЛІТИНАХ ЛЮДИНИ

Кузнєцов К.А., Пасюга В.М., Магда І.Ю., *Казанський О.В.,

*Іванченко Д.Д., *Колчигін М.М., Шкорбатов Ю.Г.

Науково-дослідний інститут біології Харківського національного університета ім. В.Н.Каразіна,
м. Харків, Україна, e-mail: shckor@univer.kharkov.ua;

*Кафедра теоретичної радіофізики, Харківського національного університета ім. В.Н.Каразіна,
м. Харків, Україна, e-mail: Nikolay.N.Kolchigin@univer.kharkov.ua

Клітини букального епітелію людини обробляли ультраширокополосним імпульсним випромінюванням за допомогою цілинної антени протягом 1, 10, 100 і 1000 с. Щільність потужності випромінювання, що діяло на клітини, варіювала від 10^{-6} до 10^{-2} Вт/см². Опромінення призводило до конденсації хроматину в ядрах клітин. Зміна часу опромінення істотно не впливало на ступінь гетерохроматинізації. У разі переривчастого опромінення ефекту конденсації хроматину не спостерігалось. Спостерігались відмінності в реакції клітин різних донорів на опромінення.

Ключові слова: гетерохроматин, еухроматин, клітинне ядро, букальний епітелій, UWB, електромагнітне випромінювання

***EFFECT OF DIFFERENT REGIMES OF ULTRAWIDEBAND PULSE IRRADIATION
ON THE STATE OF CHROMATIN IN HUMAN CELLS***

*Kuznetsov K.A., Pasyuga V.N., Magda I.Y., *Kazanskiy O.V.,*

**Ivanchenko D.D., *Kolchigin N.N., Shkorbatov Y.G.*

Research Institute of Biology of V.N.Karazin Kharkiv National University,

Kharkiv, Ukraine, e-mail: shckor@univer.kharkov.ua;

**Department of Theoretical Physics of V.N.Karazin Kharkiv National University,*

Kharkiv, Ukraine, e-mail: Nikolay.N.Kolchigin@univer.kharkov.ua

Human buccal epithelial cells were exposed to ultrawideband ultrashort pulsed radiation by means of slot antenna for 1, 10, 100 and 1000 s. Surface power of cells irradiation was from 10^{-6} to 10^{-2} W/cm². The cell exposure resulted in condensation of chromatin in cell nuclei. Changing of the exposure time not significantly affect the degree of heterochromatinization. In the case of intermittent irradiation exposure the effect chromatin condensation was not observed. There were shown individual differences in the responses to irradiation of cells from various donors.

Keywords: *heterochromatin, euchromatin, cell nucleus, buccal epithelium, UWB, electromagnetic radiation.*

**РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА
ПОД ВЛИЯНИЕМ КРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СВЕТОДИОДОВ
И ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

Посохов Н.Ф., *Чухраев Н.В., Горбунов О.В., **Коробов А.М., Михайлов А.И.

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»,
ул. Академика Павлова, 46, г. Харьков, 61068 Украина,
тел.: +38(050)677-77-53, e-mail: valeo037@bk.ru;

*ООО «НМЦ Мединтех»,

ул. Почайненская, 23, оф.2, г. Киев, Украина, тел. +38(044)531-37 09, e-mail: nv1111@mail.ru;

** Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина,

пл. Свободы, 4, г. Харьков, 61022 Украина,

тел.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@mail.ru

В статье представлены результаты экспериментально-морфологических исследований регенерации периферических нервов на модели седалищного нерва крысы после его травматического повреждения с последующей светодиодной терапией изолированно и в сочетании с магнитотерапией.

Ключевые слова: периферический нерв, травматическое повреждение нерва, магнитотерапия, фототерапия, регенерация нерва.

Введение и цель исследования

В большинстве стран мира частота заболеваний и травм периферических нервов имеет тенденцию к росту. Травмы периферических нервов составляют около 10% всех травм и более чем в половине случаев сопровождаются инвалидизацией. При этом подавляющее большинство случаев приходится на пациентов трудоспособного возраста [2].

В отличие от центральной нервной системы, периферические нервы теоретически способны полностью восстанавливаться после повреждения за счет активации специализированных шванновских клеток, образующих миелиновые оболочки нервных волокон и являющихся проводниками для аксонов. Несмотря на способность периферических нервов к регенерации, эффективность восстановления нервной проводимости в периферическом нерве при применении ряда лечебных мероприятий и лекарственных средств часто остается неудовлетворительной, что обусловлено недостаточно полным структурным восстановлением нерва (во многом связанным с рубцеванием) и соответственно - частичной или полной утратой его специализированной функции (обеспечения движения, чувствительности, трофики) [2, 3].

Поэтому необходим поиск эффективных терапевтических средств, способствующих полной репаративной регенерации с заменой поврежденной ткани тканью аналогичного строения, в отличие от неполной - с замещением дефекта соединительной тканью (рубцом).

Нами определенные надежды возлагаются на достижение большей полноты регенерации нерва за счет воздействия импульсным магнитным полем и низкоинтенсивным (нетепловым) световым излучением [6, 7]. Однако эффективность этих факторов и механизмы их действия пока изучены недостаточно.

При травматическом повреждении нерва наблюдается полное или частичное (в ряде случаев не асептическое) повреждение соединительнотканых, миелиновых оболочек и нервных проводников - аксонов в нервном стволе. Необратимость патологических процессов, препятствующих восстановлению структуры и функции нерва и приводящих к дистрофически-атрофическим изменениям в нем, в первую очередь связана с формированием после повреждения соединительнотканного рубца (с коллагенизацией).

Травматические невротии при сохранении целостности невралных оболочек (за исклю-

чением тракционного механизма повреждения) имеют лучший прогноз, чем повреждения по типу невротмезиса (полного и неполного разрыва). Многолетней практикой доказано, что необходимым условием регенерации при прерывании нервного ствола является четкое сопоставление проксимального и дистального участков поврежденного нерва. Это достигается сшиванием его концов эпинеуральным швом, в отдаленном периоде травмы - с иссечением рубцовой ткани, ткани невром; в ряде случаев используется аутологичный трансплантат нерва [3, 9, 10]. Независимо от того, как рано после перерезки сшит нерв, восстановление происходит одинаково – в форме врастания вновь образованных нервных волокон в сохранившиеся эндоневральные трубки дистального нервного отростка.

Считается, что при частичном повреждении нерва на любом уровне восстановление происходит за счет сохранившихся аксонов, которые разрастаются и ветвятся, давая многочисленные отростки, направляющиеся к денервированным участкам через эндоневральные трубки дистального нервного отростка, что получило название «спрутинг» (от англ. to sprout - пускать ростки, ветвиться). «Спрутинг» лежит в основе компенсаторно-приспособительной реиннервации. В более поздние сроки при благоприятных условиях происходит восстановление функций поврежденных аксонов (собственной или первичной иннервации), что приводит к двойной или множественной иннервации одних и тех же мышечных волокон, поскольку последние задолго до регенерации прерванных аксонов получают нервные окончания от соседних, неповрежденных аксонов [5].

В итоге не всегда обеспечивается качественная функция движения, что может быть связано с неселективной реиннервацией мышцы-эффектора и, соответственно, с десинхронизацией между центральным и периферическим компонентами локомоции [12].

Известно, что электростимуляция нервного ствола приводит к ускорению регенеративных процессов и восстановлению функции нерва [4, 14]. Несмотря на достаточно длительное применение магнитных полей с лечебной целью, в доступной литературе нет единой точки зрения относительно их влияния на процессы регенерации в нервном стволе [1, 10, 11, 13], а качественные морфологические исследования этого вопроса не проводились.

В ряде работ показана роль света в стимуляции процессов микроциркуляции, стимуляции противовоспалительных процессов, внутриклеточной и тканевой регенерации [8].

Целью настоящего исследования было изучение эффективности воздействия красного излучения светодиодов (изолированно и в сочетании с воздействием импульсного магнитного поля) на регенерацию периферического (седалищного) нерва у экспериментальных животных.

Материалы и методы

Экспериментально-морфологическое исследование регенерации нервных стволов после их частичной нейротомии проведено на белых половозрелых крысах-самцах линии Вистар возрастом 4-5 месяцев и с начальной массой тела 240-250 г. В эксперименте задействовано 3 группы животных по 6 особей в каждой группе.

Во всех случаях оперативное вмешательство выполнялось под наркозом путем внутрибрюшинного введения 0,5% раствора тиопентала натрия в дозе 14-18 мг на кг массы тела животного. После введения в наркоз животное укладывалось на бок. Конечности фиксировались к операционной площадке с помощью марлевых бинтов. Обработка операционного поля проводилась последовательно: 70° спиртом - дважды; 2% спиртовым раствором йода и 70° спиртом - однократно; 1% спиртовым раствором йода - после изоляции операционного поля, перед разрезом кожи, перед накладыванием швов на кожу и после их накладывания. По задней поверхности бедра в проекции седалищного нерва проводился линейный разрез мягких тканей (последовательно кожи, жировой клетчатки, фасций) длиной около 25 мм. Затем края раны и мышцы разводились зажимами Кохера. Под операционным микроскопом с увеличением $\times 4-24$ с помощью микрохирургического инструментария путем препаровки производился доступ к средней трети ствола седалищного нерва. Нерв фиксировался с помощью тупого микрохирургического крючка. Поперечник нерва условно делился на четыре равных участка, после чего производились два продольных разреза периневрия на границе наружных и внутренних четвертей. Выделялись пучки средних двух четвертей, которые пересекались с помощью микрохирургических ножниц интраневрально, при этом повреждение периневрия было минимальным. Рана после контроля гемостаза зашивалась наглухо однорядным кожно-фасциальным швом. Кожный шов обрабатывался 2% спиртовым раствором йода (рис. 1).

В I (контрольной) группе крыс проведена вышеописанным способом нейротомия 2/4 волокон седалищного нерва с минимальным повреждением наружной соединительнотканной оболочки нерва – периневрия, без дальнейшего физиотерапевтического воздействия. Экспериментальные

животные II группы после аналогичной нейротомии подвергались воздействию красного света (длина волны излучения 650 нм) при мощности светодиода 25 мВт, суммарной дозой 7,5 Дж (рис. 2а). В III группе крысы после аналогичной нейротомии получали, кроме фототерапии красным излучением, суммарной дозой 7,5 Дж, также воздействие импульсным полем от электромагнитного аппарата «МИТ-МТ» фирмы «Мединтех», г. Киев (частота импульсов – 3 Гц, амплитуда магнитной индукции – 30 мТл) (рис. 2б), длительность воздействия 5 минут.

В обеих опытных группах (II и III) воздействию физиотерапевтическими факторами подвергалась зона оперативного вмешательства. Продолжительность 1 сеанса воздействия составляла 5 минут. Сеансы начинались на второй день после операции и проводились через день. Каждому животному этих групп было проведено по 25 сеансов фототерапии (в группе III – в сочетании с магнитотерапией).

С целью обеспечения минимального стрессирования экспериментальных животных в процессе воздействия светом и магнитным полем было разработано специальное устройство для фиксации крыс. Оно состоит из прямоугольного плоского основания, на котором размещена полуцилиндрическая камера из прозрачного материала с головной и хвостовой частями. При этом в плоском основании по периметру полуцилиндра вырезано прямоугольное отверстие, а камера выполнена с возможностью ее перемещения и фиксации на подставке, посередине которой установлен блок физиотерапевтических воздействий с таймером. На верхней рабочей площадке установлена собирающая линза, в фокусе которой размещается источник оптического излучения, а соосно с последним установлен кольцевой электромагнит.

Данное устройство использовалось для фиксации животных в первой половине эксперимента (до 13-го сеанса). Начиная с 14-го сеанса, воздействие светом и магнитным полем на крыс проводилось вне фиксирующей камеры, поскольку ее габариты не позволяли размещать в ней животных (крысы за время эксперимента выросли настолько, что не помещались в камеру). Последних располагали так, чтобы зона повреждения периферического нерва находилась на источнике оптического излучения либо над кольцевым электромагнитом.

В послеоперационном периоде проводилось динамическое наблюдение за группами животных (до выведения из эксперимента). При этом обращали внимание на поведение крыс, степень выраженности неврологических расстройств, состояние послеоперационной раны. Затем жи-

вотные выводились из эксперимента методом передозировки тиопентал-натриевого наркоза (внутрибрюшинно вводили 0,5% раствора тиопентала натрия из расчета 30 мг на кг массы животного). Окраска извлеченных нервов проводилась по трем методикам: гематоксилин-эозин; по ван-Гизону; по методу Крутзай.

Акцент в морфологических исследованиях делался на выявлении структурных изменений в миелиновых оболочках нервных волокон, шванновских клетках, степени выраженности рубцовых изменений, степени атрофически-дистрофических изменений в нервном стволе. Определение структурных компонентов нервной системы (клеток, волокон, миелиновых оболочек) является одним из самых сложных и трудоемких разделов в гистологической практике. Известны две основные методики гистологического исследования нервной ткани: импрегнация растворами серебра (наиболее известна методика серебрения Бильшовского – Грос) и окраска метиленовой синькой по Нисслю. Методика Бильшовского позволяет выявить осевые цилиндры (аксоны) нервных волокон, но не окрашивает миелиновые оболочки (и таким образом не является удобной и показательной). Метод Ниссля отличается большой надежностью, но хорошо окрашивает только нервные клетки. Окраска (на выявление миелина) по Шпильмееру достаточно сложна, требует подготовки и «капризна». Изучить структурную взаимосвязь аксонов, миелиновых оболочек, шванновских клеток позволяет окраска на миелин по Крутзай. При окраске гематоксилин-пикрофуксином по ван-Гизону соединительная ткань и коллаген в рубцах получают ярко-красный цвет; таким образом, эта методика является дифференциально-диагностической в отношении рубцовой ткани.

Результаты и обсуждение

На основании наблюдения за животными в ходе проведения эксперимента выявлено, что:

- трофические нарушения на коже задних конечностей крыс отсутствовали во все сроки и во всех группах животных;
- процесс заживления кожных послеоперационных ран шел активно и к моменту окончания эксперимента был завершен полностью;
- животные экспериментальных групп II и III были активнее крыс контрольной группы: после 3-го сеанса физиотерапии они становились на задние лапки и занимали «стоячее» положение, животные контрольной группы I становились на задние лапки на 3-4 дня позже;
- функция стопы, по-видимому, полностью не восстанавливалась ни в одной группе; задача

проведения патофизиологических исследований не ставилась.

При морфологическом исследовании у I группы крыс, которые после частичной нейротомии не подвергались физиотерапии и служили контролем, выявлены следующие морфологические изменения:

- в целом сохранялась общая структура периневрия, но нарушалась структура эндоневрия;
- отсутствовало расщепление нервного ствола;
- наблюдалось выраженное внутриволоковое рубцевание в нерве, охватывающее как зону нанесенного повреждения, так и прилежащие участки нерва; в ряде случаев возникал полный поперечный рубец, иногда – диффузный рубец; наблюдалась коллагенизация самих шванновских клеток (рис. 3, 4);
- явления регенерации с образованием новых нервных волокон практически отсутствовали;
- в ряде случаев нерв истончался, преобладали явления атрофии нервных волокон;
- нервные волокна из проксимального участка нерва не прорастали в формирующийся внутриволоковой рубец;

В целом же наблюдалось выраженное рубцевание.

Морфологическое исследование животных II группы, которые после частичной нейротомии

получали фототерапию красным светом, дало следующие результаты (рис. 5-8):

- сохранялась общая структура периневрия и эндоневрия;
- отсутствовало расщепления нервного ствола;
- сохранялось линейное расположение волокон в нервном стволе и линейное расположение шванновских клеток, явления коллагенизации - не выражены;
- наблюдалось очаговое внутриволоковое рубцевание преимущественно в пределах зоны нанесенного повреждения;
- нервные волокна, прилежащие к рубцу, сохраняли продольное расположение, слегка огибающая рубец;
- наблюдалась умеренно выраженная упорядоченная линейная пролиферация шванновских клеток;
- отсутствовали выраженные атрофически-дистрофические изменения аксонов и миелиновых оболочек нервных волокон в нервном стволе;
- в одном наблюдении из этой группы наступила атрофия волокон в нервном стволе и диффузное рубцевание (как в контроле).

В целом полученные изменения можно охарактеризовать как неполную репаративную регенерацию (с рубцеванием).

Таблица 1

Особенности морфологических изменений в тканях (седалищный нерв крысы с прилежащими тканями) в I-III группах

Группа и порядковый номер животного	Время забора тканей, сутки	Степень выраженности гистологических изменений						
		Внутриволоковой рубец	Рубцовые изменения в периневральных тканях	Истончение нерва	Расщепление нервного ствола	Рост нервных волокон в нервном стволе (регенерация)	Рост нервных волокон за пределами ствола	Образование нервом на фоне рубца
Группа I								
1	60	+++	++	++	—	—	—	—
2	60	++	++	++	—	—	—	—
3	60	++	+	++	—	—	—	—
4	60	+++	++	+++	—	—	—	—
5	60	+++	++	+++	—	—	—	—
6	60	+++	++	+++	—	—	—	—
Группа II								
7	60	+	+	—	—	+	—	—
8	60	+	—	—	—	+	—	—
9	60	+++	+	+	—	+	—	—
10	60	+	—	—	—	+	—	—
11	60	+	—	—	—	+	—	—
12	60	+	—	+	—	+	—	—
Группа III								
13	60	+	+	—	++	++	++	—
14	60	++	+	—	++	++	++	—
15	60	+	+	—	++	++	++	—
16	60	+	++	—	+++	+++	+++	+
17	60	++	+	—	++	++	++	—
18	60	+	+	—	+++	+++	+++	—

Условные обозначения степени выраженности морфологических изменений в табл. 1: + - слабая, ++ - умеренная, +++ - значительная, — - отсутствуют

Рисунки к статье
Посохова Н.Ф., Чухраева Н.В., Горбунова О.В., Коробова А.М., Михайлова А.И.
«Результаты экспериментально-морфологического исследования регенерации
периферического нерва под влиянием красного излучения светодиодов
и импульсного магнитного поля»

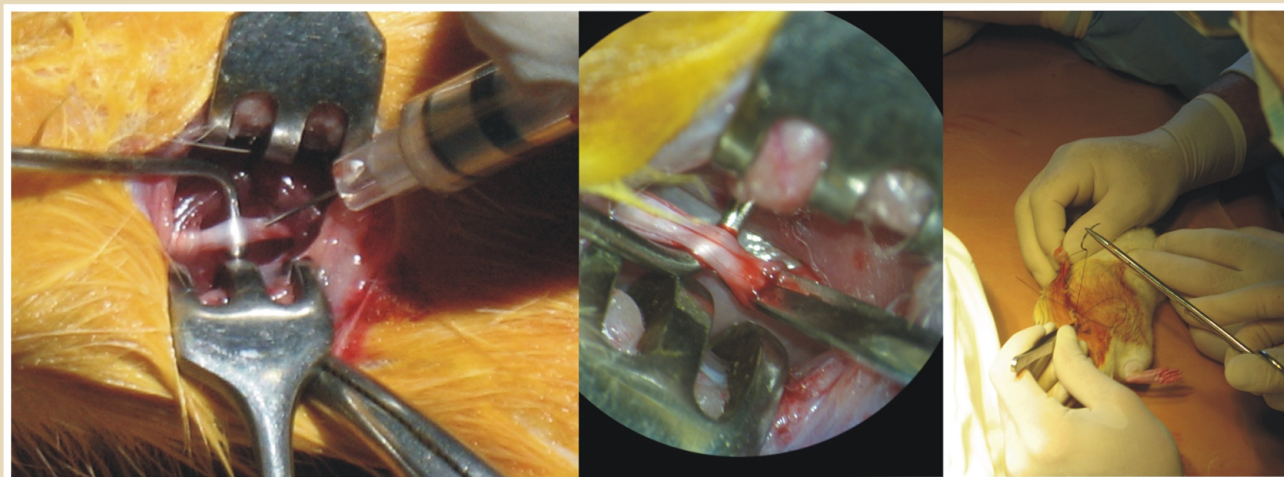


Рис. 1. Этапы нейротомии седалищного нерва у крыс.



А



Б

Рис. 2. Сеанс фототерапии красным светом (а) и магнитом с красным светом (б)

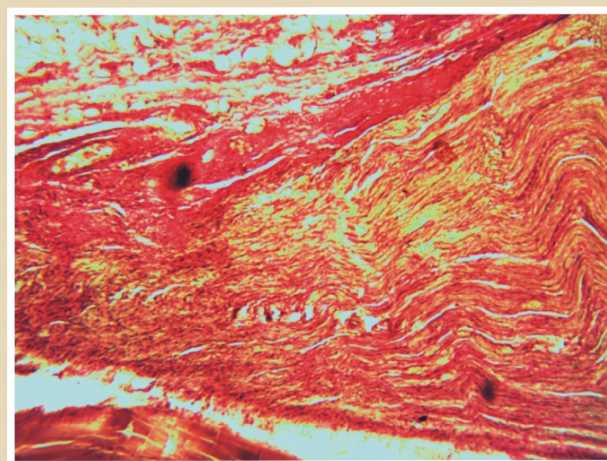
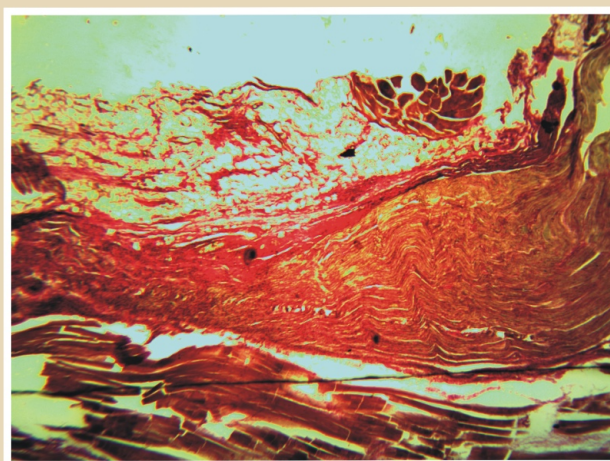


Рис. 3. Группа I (контроль). Седалищный нерв крысы, зона внутриволокнистого рубцевания с истончением нерва, коллагенизацией рубца в зоне нейрохирургического повреждения. Окраска по ван-Гизону (коллаген окрашен в красный цвет). Слева - увеличение x40, справа - x100.

Рисунки к статье
Посохова Н.Ф., Чухраева Н.В., Горбунова О.В., Коробова А.М., Михайлова А.И.
«Результаты экспериментально-морфологического исследования регенерации
периферического нерва под влиянием красного излучения светодиодов
и импульсного магнитного поля»

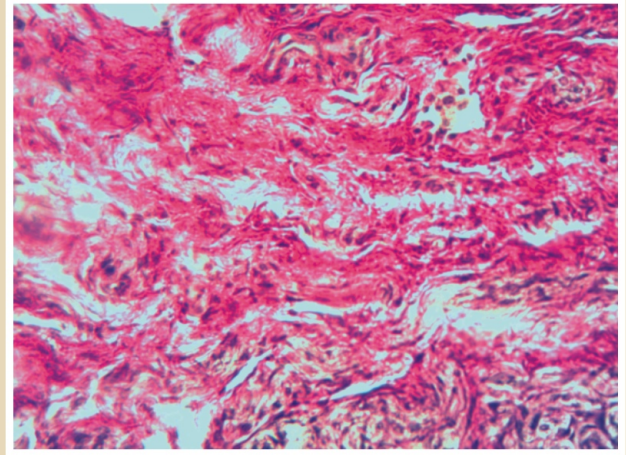
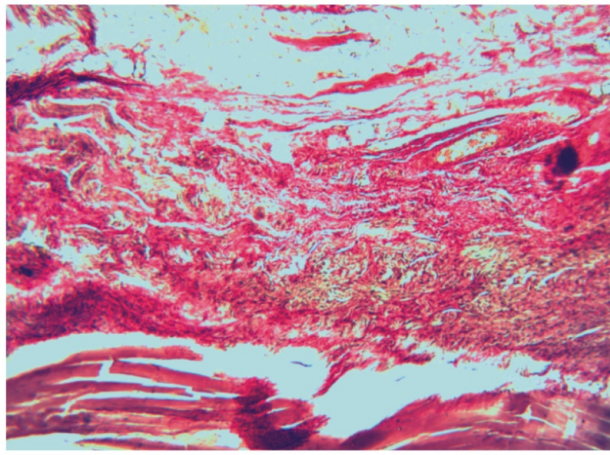


Рис. 4. Группа I (контроль). Седалищный нерв крысы. Диффузное внутриволоковое рубцевание в зоне нейрохирургического повреждения, коллагенизация и атрофия нервных волокон. Окраска по ван-Гизону. Слева - увеличение x100, справа - x400.



Рис. 5. Группа II. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом. Целостность периневрия не нарушена, гладкий периневрий четко ограничен от окружающих тканей; нервный ствол сохраняет анатомическую целостность.

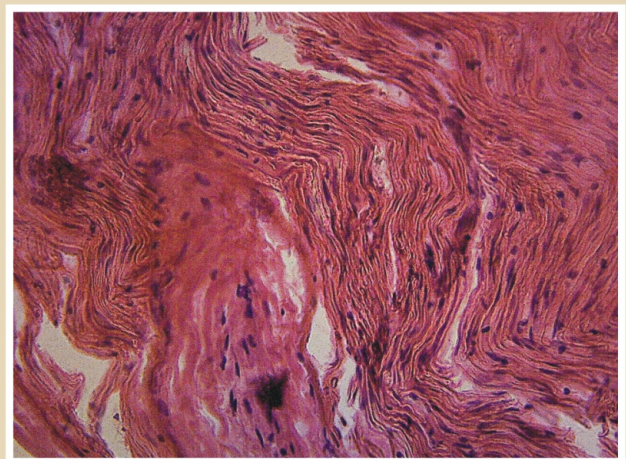
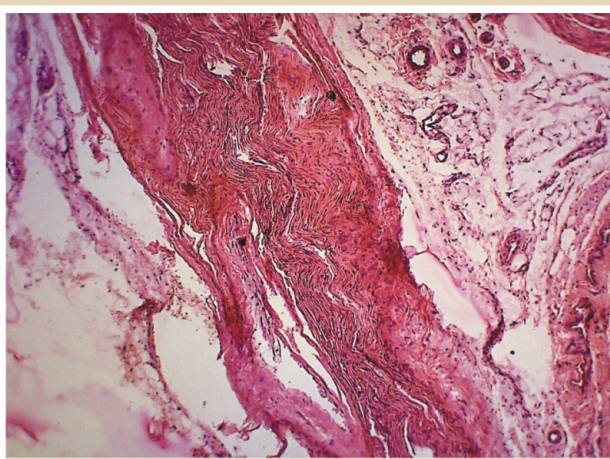


Рис. 6. Группа II. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом. Окраска гематоксилин-эозином. Слева - увеличение x40: имеются участки ограниченного рубцевания в нервном стволе в пределах зоны повреждения; границы периневрия - четкие. Справа - увеличение x400: внутриволоковой рубец (ограниченный).

Рисунки к статье
Посохова Н.Ф., Чухраева Н.В., Горбунова О.В., Коробова А.М., Михайлова А.И.
«Результаты экспериментально-морфологического исследования регенерации
периферического нерва под влиянием красного излучения светодиодов
и импульсного магнитного поля»

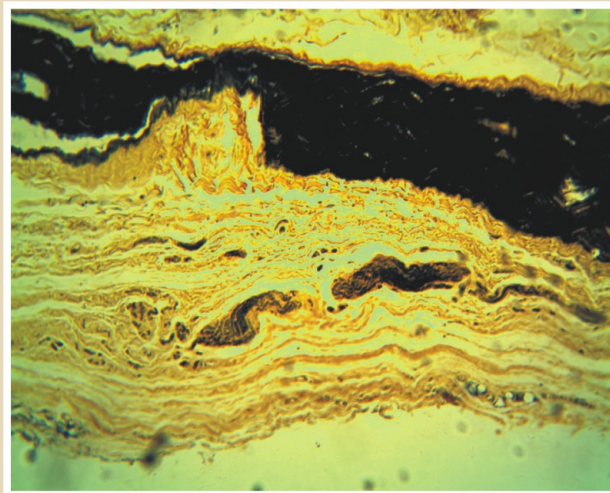
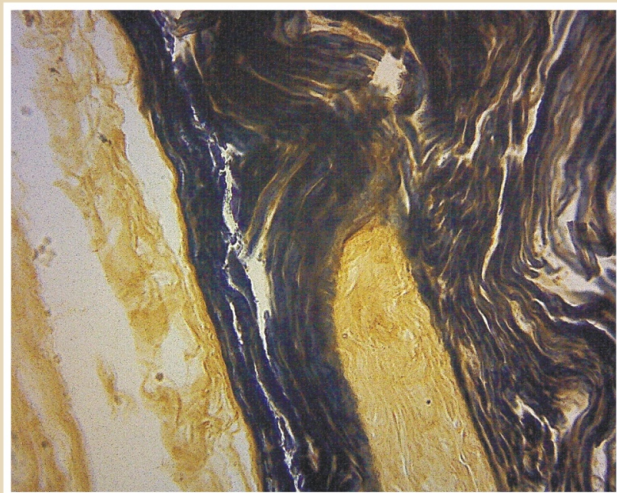


Рис. 7. Группа II. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом. Окраска на миелин по Крутзай. Слева: увеличение $\times 400$; поперечный рубец, в котором отсутствуют миелиновые волокна (миелин – темно окрашенный), нервные волокна обгибают рубец. Справа: увеличение $\times 40$; в рубце отсутствуют миелиновые волокна, новые волокна не формируются.

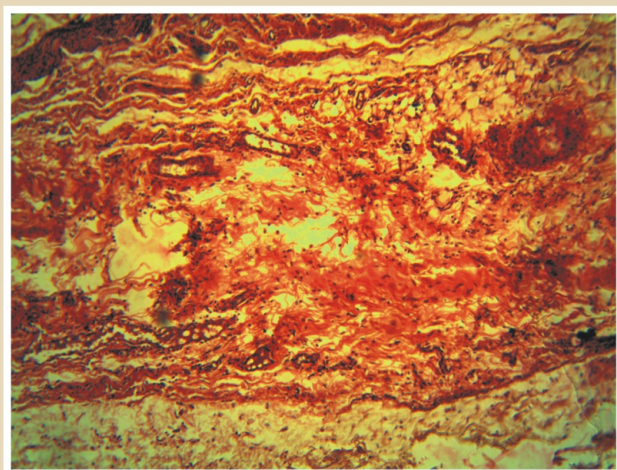


Рис. 8. Группа II. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом. Окраска по ван-Гизону, увеличение $\times 100$: диффузный рубец с атрофией волокон, как в группе I.



Рис. 9. Группа III. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и фототерапии красным светом в сочетании с импульсной магнитотерапией. Наблюдается характерная «парусовидная» спайка в окружающих нерв тканях.

Рисунки к статье
Посохова Н.Ф., Чухраева Н.В., Горбунова О.В., Коробова А.М., Михайлова А.И.
«Результаты экспериментально-морфологического исследования регенерации
периферического нерва под влиянием красного излучения светодиодов
и импульсного магнитного поля»

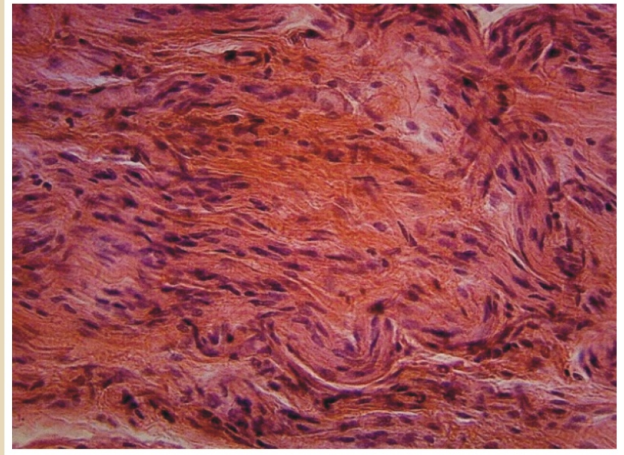
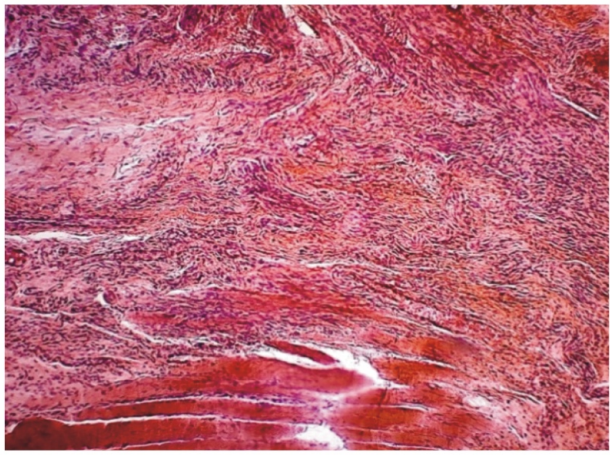


Рис. 10. Группа III. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом в сочетании с импульсной магнитотерапией. Окраска гематоксилин-эозином. Слева - увеличение $\times 100$: границы периневрия с окружающими тканями нечеткие. Справа - увеличение $\times 400$: рубцовые изменения и «вихреобразные» структуры из пролиферирующих шванновских клеток.

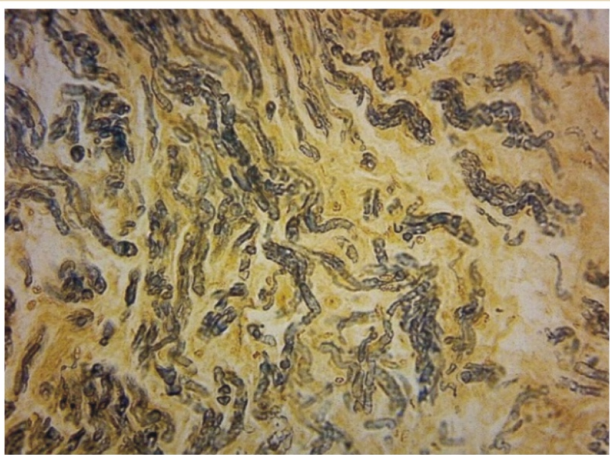


Рис. 11. Группа III. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом в сочетании с импульсной магнитотерапией. Окраска по Круτζай. Увеличение $\times 400$ (рис. 11, а) и $\times 100$ (рис. 11, б). Слева: расщепление нервного ствола на фоне умеренно выраженных рубцовых изменений. Справа: расщепление нервного ствола, прорастание нервных волокон между мышечными.

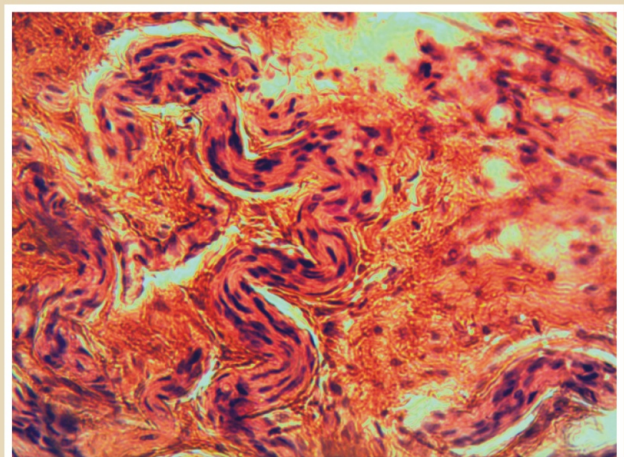
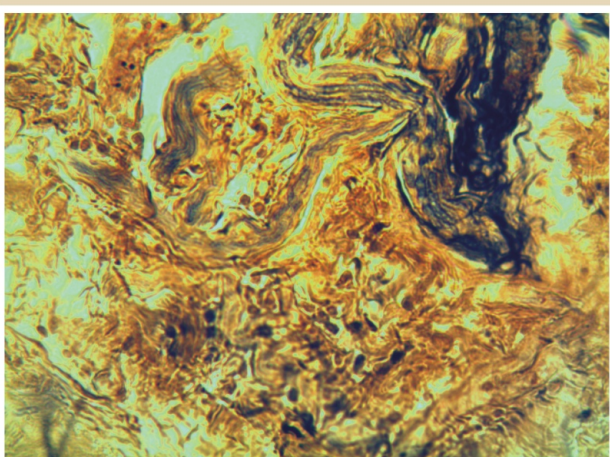


Рис. 12. Группа III. Седалищный нерв крысы после нейрохирургического повреждения и курса фототерапии красным светом в сочетании с импульсной магнитотерапией. Увеличение $\times 400$. Слева - окраска по Круτζай: место расщепления нервного волокна («спрутинг»). Справа - окраска гематоксилин-эозином: рост нервного волокна после «спрутинга».

В экспериментальной группе III, где крысы после частичной нейротомии седалищного нерва получали курс фототерапии красным светом в сочетании с воздействием импульсного магнитного поля, наблюдались следующие морфологические изменения (рис. 9-12):

- нарушения общей структуры периневрия (в виде «сращения» с окружающими тканями) и линейной структуры эндоневрия;

- расщепление нервного ствола – «спрутинг» нервных волокон;

- нарушение линейного расположения волокон в нервном стволе и линейного расположения шванновских клеток (Бюгнеровских лент), наличие внутристволовых «вихревых» структур из пролиферирующих шванновских клеток;

- выраженная и избыточная пролиферация пролиферирующих шванновских клеток с их «агрессией» в отношении оболочек нерва; имело место прорастание вновь образованных нервных волокон (после «спрутинга») в прилежащие ткани и между мышечными волокнами (невротизация близлежащих мышц);

- умеренно выраженное внутристволовое диффузное рубцевание, отсутствие коллагенизации;

- умеренные атрофические изменения аксонов.

В целом эти изменения можно охарактеризовать как неупорядоченную патологическую регенерацию.

Оценка морфологических изменений в тканях проводилась при помощи непараметрического статистического метода (учитывалась степень выраженности отдельных морфологических признаков) с учетом в полуколичественной форме – см. табл. 1.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что свет является одним из факторов, влияющих на последовательность морфологических изменений в поврежденном нерве.

Процесс внутристволового рубцевания в наибольшей степени выражен в контрольной группе I; он характеризуется коллагенизацией рубца, а признаки регенерации через 60 суток практически отсутствуют.

После фототерапии красным светом (длина волны 650 нм, мощность 25 мВт) у животных группы II поврежденный нервный ствол структурно выглядит предпочтительнее, чем у крыс контрольной группы. Наблюдается более полная регенерация: незначительно выражено внутристволовое рубцевание в пределах зоны повреждения, восстанавливается структура поврежденных миелиновых оболочек, сохраняется упорядоченное линейное расположение шванновских клеток в стволе вне зоны повреждения и неповрежденных волокон, практически полностью восста-

навливается структура периневрия и окружающих периневральных тканей, при этом можно ожидать большую функциональную активность нерва. Однако при выявленном частичном сохраняющем и восстанавливающем эффекте воздействия красного света на структуру нервного ствола не удалось добиться полной регенерации и предотвратить внутристволовое рубцевание.

После сочетанного воздействия импульсного магнитного поля (частота импульсов 3 Гц, амплитуда индукции в максимуме 30 мТл) и фототерапии красным светом у животных группы III регенерация нервных волокон заметно выше, чем в других группах, и внесстволовой рубцовый компонент выражен в незначительной степени. В то же время наблюдается патологическая регенерация: расщепление нервного ствола, неупорядоченная, избыточная пролиферация шванновских клеток, нарушение линейной структуры их расположения с «вихреобразной» пролиферацией и выраженной «агрессией» этих клеток в отношении периневральных тканей (прорастанием соединительнотканых периневральных оболочек, хаотичным прорастанием нервных волокон между мышечными волокнами). Аксоны, встречающиеся на своем пути препятствие из пролиферирующих шванновских клеток и рубцовой ткани, изменяют продольное направление, извиваются и ветвятся; в результате формируются образования с признаками невром.

Поэтому при сочетании магнитотерапии с фототерапией требуется регулирующий фактор для недопущения гетеротопной иннервации (вероятно, послеоперационный тубаж).

Выводы

1. Выявлен частичный структуросохраняющий и структуровосстанавливающий эффект воздействия красного светодиодного излучения на структуру поврежденного нервного ствола за счет восстановления структуры нервных волокон и минимизации рубцовых изменений. Однако при продолжительности курса фототерапии и сроках наблюдения, имевших место в наших экспериментах, не удалось добиться полной регенерации и полностью предотвратить внутристволовое рубцевание.

2. Морфологические изменения в нервном стволе после воздействия красного светодиодного излучения можно охарактеризовать как неполную регенерацию (с ограниченным внутристволовым рубцеванием).

3. В поврежденном микрохирургическим способом нервном стволе процессы регенерации более упорядочены после фототерапии, чем после комбинированного воздействия света и магнитного поля.

4. Морфологические изменения в нервном стволе при сочетанном воздействии магнитного поля и света (без коррегирующего воздействия) можно охарактеризовать в ряде случаев как патологическую регенерацию.

5. Сочетанное воздействие красного светодиаодного излучения и импульсного магнитного поля приводит к избыточной пролиферации шванновских клеток, неупорядоченному росту регенерирующих нервных волокон, ветвлению волокон («спрутинг»), нарушению их линейного расположения и «агрессивному» врастанию в близлежащие ткани и мышцы. Это может привести к гетеротопической иннервации

мышц и нарушению взаимоотношений между центральным и периферическим звеньями локомоции.

6. Процесс внутриволокового рубцевания в наибольшей степени выражен в контрольной группе животных, не получавших физиотерапевтического лечения, и характеризуется выраженной коллагенизацией рубца. При этом признаки регенерации в этой группе в ранние сроки практически отсутствуют.

7. Необходимо проведение дальнейших исследований влияния различных факторов на регенерацию периферических нервов, в том числе и длительные сроки - до 1 года.

Литература

1. Беркутов А.М. Системы комплексной электромагнитотерапии: учебное пособие для вузов / А.М.Беркутов, В.И.Жулев, Г.А.Кураев и др. – М.: Лаборатория базовых знаний, 2000. – 376 с.

2. Берснев В.П. Практическое руководство по хирургии нервов / В.П.Берснев, Г.С.Кокин, Т.О.Извекова. – СПб., 2009. – 561 с.

3. Григорович К.А. Хирургическое лечение поврежденных нервов. – Л.: Медицина, 1981. – 301 с.

4. Нинель В.Г. Гистоморфологическая оценка эффективности воздействия переменного магнитного поля и импульсного тока на регенерацию седалищного нерва крыс в эксперименте / В.Г.Нинель, И.А.Норкин, Д.М.Пучиньян и др. // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – №12. – С.336-340.

5. Одинак М.М. Патолофизиологические закономерности, определяющие восстановление утраченных функций при травматических невропатиях и плексопатиях / М.М.Одинак, С.А.Живолупов, Н.А.Рашидов и др. // *Клиническая патофизиология*. – 2008. – №1–2. – С.12–27.

6. Посохов Н.Ф. Предварительные результаты изучения влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения красного диапазона на регенерацию периферического нерва в эксперименте / Н.Ф.Посохов, О.В.Горбунов, А.М.Коробов и др. // *Материалы XXXXII Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии» (11-13 декабря 2014 г., Яремче)*. – Харьков, 2014. – С.106-108.

7. Посохов Н.Ф. Предварительные результаты изучения влияния сочетанного низкоинтенсивного красного света и импульсного магнитного поля на регенерацию периферического нерва в эксперименте / Н.Ф.Посохов, О.В.Горбунов, Е.Н.Чухраева и др. // *Материалы XXXXII*

Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии» (11-13 декабря 2014 г., Яремче). – Харьков, 2014. – С.108-111.

8. Тондий Л.Д. О развитии свето-лазеролечения на Слобожанщине / *Фотобиология и фотомедицина*. – 1998. – №1. – С.126-130.

9. Цымбалюк В.И. Хирургическое лечение повреждений периферических нервов при больших дефектах / В.И.Цымбалюк, А.Т.Сташкевич // *Врачебное дело*. – 1987. – №6. – С.47.

10. Цимбалюк В.І. Дослідження ефективності комбінованої пластики сідничного нерва за його великого дефекту шляхом кількісної оцінки ступеня функціонального відновлення в експерименті у шурів / В.І.Цимбалюк, І.Б.Третяк, О.О.Гацький // *Український нейрохірургічний журнал*. – 2012. – №3. – С.48-51.

11. Baptista A.F. PEMF fails to enhance nerve regeneration after sciatic nerve crush lesion / A.F.Baptista, B.T.Goes, D.Menezes et al. // *J. Peripher. Nerv. Syst.* – 2009. – Vol.14, №4. – P.285–293.

12. Gramsbergen A. Sciatic nerve transection in the adult rat: abnormal EMG patterns during locomotion by aberrant innervation of hindleg muscles / A.Gramsbergen, M.F.Meek // *Exp. Neurol.* – 2000. – Vol.161. – P.183–193.

13. Kelleher M.O. Use of a static magnetic field to promote recovery after peripheral nerve injury / M.O.Kelleher, R.K.Al-Abri, D.V.Lenihan et al. // *J. Neurosurg.* – 2006. – Vol.105, №4. – P.610–615.

14. Lee T.H. Functional regeneration of a severed peripheral nerve with a 7-mm gap in rats through the use of an implantable electrical stimulator and a conduit electrode with collagen coating / T.H.Lee, H.Pan, I.S.Kim et al. // *Neuromodulation*. – 2010. – Vol.13, №4. – P.299–305.

**РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
РЕГЕНЕРАЦІЇ ПЕРИФЕРИЧНОГО НЕРВУ ПІД ВПЛИВОМ ЧЕРВОНОГО
ВИПРОМІНЮВАННЯ СВІТЛОДІОДІВ ТА ІМПУЛЬСНОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ**

*Посохов М.Ф., *Чухраєв М.В., Горбунов О.В., **Коробов А.М., Михайлов А.І.*
ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України»,
вул. акад. Павлова, 46, м. Харків, 61068 Україна,
тел.: +38(050)677-77-53, e-mail: valeo037@bk.ru;
* ТОВ «НМЦ Мединтех»,
вул. Почайненська, 23, оф.2, м. Київ, Україна,
тел. +38(044)531-37 09, e-mail: nv11111@mail.ru;
** Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна,
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022 Україна,
тел.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@mail.ru

У статті представлено результати експериментально-морфологічних досліджень регенерації периферичних нервів на моделі сідничного нерва щура після його травматичного пошкодження з подальшою світлодіодною терапією ізольовано і в поєднанні з магнітотерапією.

Ключові слова: периферичний нерв, травматичне пошкодження нерву, магнітотерапія, фототерапія, регенерація нерву.

**RESULTS OF EXPERIMENTAL AND MORPHOLOGICAL RESEARCH
ON REGENERATION OF THE PERIPHERAL NERVE
UNDER THE INFLUENCE OF THE RED RADIATION OF LIGHT-EMITTING DIODES
AND THE PULSE MAGNETIC FIELD**

*Posohov N.F., * Chuhraev N.V., Gorbunov O.V., **Korobov A.M., Mikhailov A.I.*

*“Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of NAMN of Ukraine”,
Academician Pavlov St., 46, Kharkov, 61068 Ukraine,
ph.: +38(050)677-77-53, e-mail: valeo037@bk.ru;
«SMC Medintekh»,*

*Pochaynenskaya St., 23, of.2, Kiev, Ukraine, ph. +38 (044)531-37 09, e-mail: nv11111@mail.ru;
** V.N. Karazin Kharkov National University,
Svoboda sq., 4, Kharkov, 61022 Ukraine,
ph.: +38(067)731-14-31, e-mail: amkorobov@mail.ru*

Results of experimental and morphological researches of regeneration of peripheral nerves on model of a sciatic nerve of a rat after his traumatic damage with the subsequent LED therapy separately and in combination with a magnetotherapy are presented in article.

Keywords: peripheral nerve, traumatic injury of a nerve, magnetotherapy, phototherapy, regeneration of a nerve.

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
(ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO*)**

¹Куцевляк В.Ф., ¹Пушкарь Л.Ю., ¹Северин Л.В., ¹Велигоря И.Е.,
²Войда Ю.В., ²Бирюкова С.В., ³Коробов А.М., ⁴Пономарев Г.В.

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования (ХМАПО),
кафедра стоматологии и терапевтической стоматологии,
ул. Тринклера, 6, г. Харьков, 61022, Украина, тел.: +38(057)705-17-55;

²Харьковская медицинская академия последипломного образования (ХМАПО),
Кафедра клинической иммунологии и микробиологии ХМАПО,
ул. Пушкинская, 14, г. Харьков, 61057, Украина, тел.: +38(057)731-19-59;

³Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина,
НИ лаборатория квантовой биологии и квантовой медицины,
майдан Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина,
e-mail: amkorobov@i.ua; тел.: +38(057)705-51-91

⁴Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н.Ореховича РАМН, г. Москва, Россия

Исследован антимикробный эффект воздействия на стандартные культуры E. coli в течение 3 или 5 минут фиолетовым, синим, зеленым или красным излучением светодиодов с мощностью 25 мВт и плотностью мощности 3 мВт/см² после обработки этих культур растворами фотосенсибилизаторов димегина (0,35%), фотодитазина (0,5%) и метиленового синего (1%). Установлено, что воздействие только светом или только фотосенсибилизатором не приводит к подавлению роста культуры E. coli, за исключением 1% раствора метиленового синего, который проявлял самостоятельный антимикробный эффект. Рост E. coli не наблюдался и после воздействия на обработанные метиленовым синим культуры красным, зеленым, синим и фиолетовым светом, что также указывает на бактерицидный эффект самого фотосенсибилизатора.

При использовании димегина наибольший антимикробный эффект дало воздействие фиолетовым светом с экспозицией 5 мин. Сходный результат получен и при воздействии фиолетового света после обработки культуры фотодитазином. Полученные in vitro результаты опытов свидетельствуют о перспективности фотодинамической терапии в качестве антибактериального лечения инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, E. coli, димегин, фотодитазин, метиленовый синий, излучение светодиодов.

Введение и цель работы

Видовой состав постоянной микрофлоры полости рта (бактерии, грибки, простейшие, вирусы и др.) в норме довольно стабилен, а представители непостоянной микрофлоры обнаруживаются, как правило, в очень незначительных количествах и в короткие периоды времени. Длительному пребыванию и жизнедеятельности их в полости рта препятствуют местные неспецифические факторы защиты — лизоцим слюны, фагоциты, а также постоянно присутствующие здесь лактобациллы и стрептококки, которые являются ан-

тагонистами многих непостоянных обитателей полости рта. В здоровом организме постоянная микрофлора выполняет функцию биологического барьера, препятствуя размножению патогенных микроорганизмов, поступающих из внешней среды. Она также является постоянным стимулятором местного иммунитета.

При нарушениях физиологического состояния полости рта представители непостоянной микрофлоры могут задерживаться в ней и размножаться. Так, наличие съемных протезов приводит к развитию хронического воспаления под их ба-

зисом с нарушением слюноотделения и орошения слизистой оболочки. В подобных ситуациях резко возрастает колонизация грибами *Candida*, а также бактериями из желудочно-кишечного тракта - эшерихиями (их основной представитель в полости рта — кишечная палочка), энтерококками и др.

Стойкие изменения состава и свойств микрофлоры, обусловленные снижением реактивности организма, резистентности слизистой оболочки полости рта, а также некоторыми лечебными мероприятиями (лучевая терапия, прием антибиотиков, иммуномодуляторов и др.), могут приводить к возникновению различных заболеваний полости рта, возбудителями которых бывают как патогенные микроорганизмы, попадающие извне, так и условно-патогенные представители постоянной микрофлоры ротовой полости.

В связи со снижением эффективности медикаментозной антибактериальной терапии, образованием устойчивых к известным антибиотикам штаммов микроорганизмов, невысокой эффективностью и длительностью сроков общепринятых методов, поиск новых способов лечения инфекционно-воспалительных процессов в полости рта является актуальным. Перспективными считаются физические методы, которые способствуют снижению медикаментозной нагрузки на организм, предотвращают его алергизацию, развитие токсических, иммуносупрессивных и других побочных эффектов.

Среди современных технологий лечения инфекционных заболеваний важное место принадлежит фотодинамической терапии (ФДТ) - щадящему, относительно безвредному, хорошо переносимому больными методу, позволяющему повторять, при необходимости, лечение многократно [3, 7]. Анти-микробная ФДТ основана на использовании веществ-фотосенсибилизаторов (ФС) с последующим воздействием низкоэнергетического излучения лазеров или светодиодов, запускающего фотодинамическую реакцию [1].

ФС - химическое соединение, молекула которого под действием света видимой части спектра переходит в возбужденное состояние, а при возврате в основное состояние передает полученную энергию другим соединениям. В роли ее акцептора выступает кислород, всег-

да присутствующий в биологических тканях. Под действием ФС он переходит в активную синглетную форму. Взаимодействуя с белками и др. макромолекулами, синглетный кислород

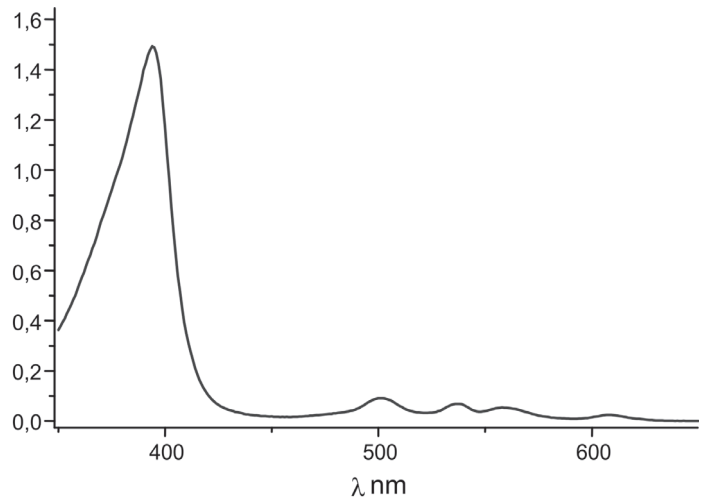


Рис. 1. Спектр поглощения водного раствора димегина (при pH 9.5).

Здесь и на рис. 2, 3: λ - длина волны излучения, нм;
D - интенсивность поглощения.

запускает каскад свободно-радикальных реакций, в результате которых повреждаются биологические структуры, что приводит к некрозу и апоптозу клеток. ФС избирательно накапливается в энергодефицитных клетках (опухолевых, микробных, поврежденных), давая возможность

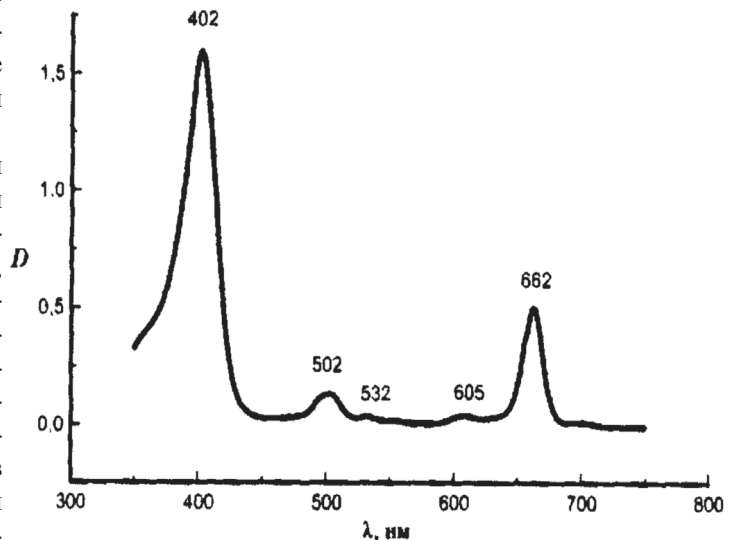


Рис. 2. Спектр поглощения водного раствора фотодитазина.

использовать фотодинамическую реакцию для их уничтожения [4].

Известно также, что ФДТ оказывает выраженный бактерицидный эффект, противовоспалительное действие, усиливает иммунный ответ,

предупреждает дистрофические и склеротические процессы [2, 5, 6, 8].

Целью исследования было изучение *in vitro* антимикробного эффекта в отношении кишечной палочки различных сочетаний ФС (растворов метиленового синего, димегина и фотодитазина) с последующим воздействием низкоэнергетического излучения светодиодов одного из четырех цветов (красного, зеленого, синего и фиолетового).

Материалы и методы исследования

Использованные в опытах три ФС отличаются существенно различными спектрами поглощения света. Главная особенность димегина (рис. 1) заключается в том, что в области длин волн 395-405 нм имеется интенсивная полоса поглощения.

Таким образом, этот ФС можно возбуждать, используя доступные и относительно дешевые светодиодные источники синего и фиолетового излучения (с длиной волны 390-410 нм).

Анализируя спектр поглощения фотодитазина (рис. 2), можно заметить, что у этого ФС пики поглощения имеют место при длинах волн 400 и 660 нм – в сине-фиолетовой и в красной части видимого спектра. Это открывает возможность использования фотодитазина для проведения не только ФДТ, но и фотодинамической диагностики.

Спектр поглощения 1% водного раствора метиленового синего (рис. 3) имеет максимум поглощения в красной области спектра (длины волн от 650 до 670 нм). Интенсивность поглощения света метиленовым синим здесь выше, чем у дру-

Таблица 1

Результаты контрольных опытов

Контроль	Повторность (засеваемый объем, мл)	Количество выросших колоний	Среднее значение КОЕ в 1 мл
К1	№1 (0,05)	120	4,23 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	104	
	№3 (0,005)	41	
К2 димегин	№1 (0,05)	124	3,24 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	112	
	№3 (0,005)	25	
К2 фотодитазин	№1 (0,05)	128	4,95 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	195	
	№3 (0,005)	42	
К2 метиленовый синий	№1 (0,05)	1	2 x 10 ⁵
	№2 (0,05)	1	
	№3 (0,005)	0	
К3 красный свет	№1 (0,05)	136	3,54 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	55	
	№3 (0,005)	34	
К3 зеленый свет	№1 (0,05)	132	4,25 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	156	
	№3 (0,005)	35	
К3 фиолетовый свет	№1 (0,05)	164	5,4 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	167	
	№3 (0,005)	48	
К3 синий свет	№1 (0,05)	101	2,74 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	100	
	№3 (0,005)	21	
К4 красный свет	№1 (0,05)	55	4,73 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	124	
	№3 (0,005)	53	
К4 зеленый свет	№1 (0,05)	126	3,25 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	121	
	№3 (0,005)	24	
К4 фиолетовый свет	№1 (0,05)	131	4,2 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	79	
	№3 (0,005)	42	
К4 синий свет	№1 (0,05)	93	4,47 x 10 ⁷
	№2 (0,05)	127	
	№3 (0,005)	45	

гих ФС, поэтому можно ожидать выраженного противомикробного эффекта ФДТ с применением красного излучения.

При проведении экспериментов *in vitro* из суточной культуры *E. coli* (ATCC 25922, получен из института Громашевского), выращенной на агаре Мюллера-Хинтона, делали одномиллиардную взвесь в физиологическом растворе, по стандарту мутности разводили до 10^{-4} (рабочее разведение).

Для удобства визуального подсчета осуществлялся засев опытных и контрольных чашек калиброванной петлей (засеваемый объем = 0,005 мл) или пипеткой (засеваемый объем = 0,05 мл в двух повторностях) поскольку изначально была известна степень засеваемой культуры на чашках, а ее точное количество только предполагалось. После этого на поверхность питательной среды наносили раствор одного из трех ФС в объеме 0,1 л, покрывая им всю поверхность чашки. В экспериментах использовали 1% водный раствор метиленового синего (N,N,N',N'-тетраметилтионина хлорид тригидрат, 3,7-бисдиметиламинофенолтиоцианит хлорид), 0,35% раствор димегина (2,4-ди(1-метоксиэтил)-дейтеропорфирина IXдинатриевая соль), 0,5% раствор фотодитазина (N-диметилглюкаминавая

Все чашки облучались на таком расстоянии (1 см для синего, фиолетового, зеленого источников

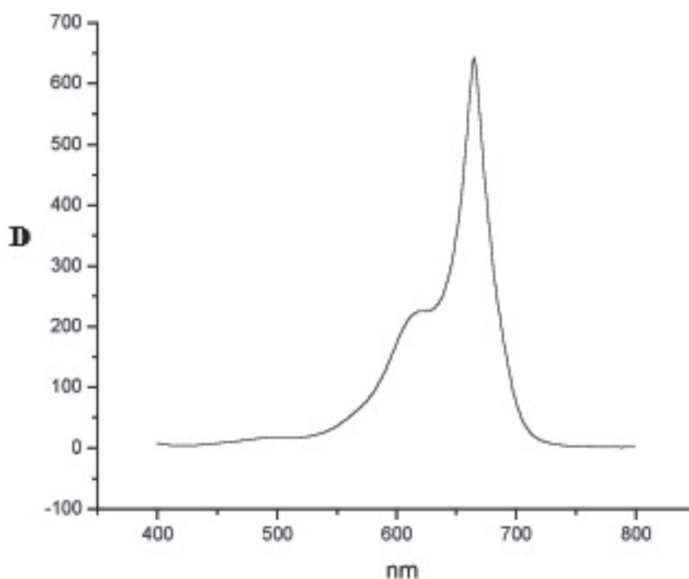


Рис. 3. Спектр поглощения раствора метиленового синего.

светом и 7 см для красного), чтобы достигалась равномерность облучения поверхности засеянной питательной среды. После облучения засеянные чашки инкубировались в термостат при температуре 37°C на 18-24 часа.

В экспериментах использовали излучение светодиодов одного из 4 цветов: красного (длина

Таблица 2

Результаты сочетанного воздействия димегина и излучения различного цвета на культуру *E.coli*.

Цвет излучения светодиодов	Экспозиция, мин.			
	3		5	
	Количество выросших колоний (засеваемый объем, мл)	Среднее значение КОЕ в 1 мл	Количество выросших колоний (засеваемый объем, мл)	Среднее значение КОЕ в 1 мл
Красный	85 (0,05)	3,57 x 10 ⁷	135 (0,05)	5,42 x 10 ⁷
	120 (0,05)		198 (0,05)	
	33 (0,005)		48 (0,005)	
Зеленый	75 (0,05)	3,07 x 10 ⁷	56 (0,05)	1,75 x 10 ⁷
	106 (0,05)		43 (0,05)	
	28 (0,005)		11 (0,005)	
Фиолетовый	63 (0,05)	7,2 x 10 ⁶	7 (0,05)	3,8 x 10 ⁶
	35 (0,05)		0 (0,05)	
	1 (0,005)		5 (0,005)	
Синий	106 (0,05)	3,4 x 10 ⁷	96 (0,05)	2,6 x 10 ⁷
	154 (0,05)		94 (0,05)	
	25 (0,005)		20 (0,005)	

соль хлорина Е6, ООО «Вета-Гранд»). Перед воздействием света чашки выдерживались в темноте в течение 20 мин., облучение проводилось в темной комнате, куда не попадали солнечные лучи.

волны 635-660 нм, аппарат Лика-терапевт, ЧМПШ «Фотоника Плюс», г.Черкассы), а также зеленого (500-565 нм), синего (440-485 нм) и фиолетового (380-440 нм, аппарат А.М.Коробова, г.Харьков)

Результаты сочетанного воздействия фотодитазина и излучения различного цвета на культуру *E. Coli*.

Цвет излучения светодиодов	Экспозиция, мин.			
	3		5	
	Количество выросших колоний (засеваемый объем, мл)	Среднее значение КОЕ в 1 мл	Количество выросших колоний (засеваемый объем, мл)	Среднее значение КОЕ в 1 мл
Красный	129 (0,05)	2,85 x 10 ⁷	63 (0,05)	2,85 x 10 ⁷
	158 (0,05)		65 (0,05)	
	14 (0,005)		30 (0,005)	
Зеленый	178 (0,05)	4,8 x 10 ⁷	59 (0,05)	2,3 x 10 ⁷
	182 (0,05)		126 (0,05)	
	36 (0,005)		16 (0,005)	
Фиолетовый	59 (0,05)	2,33 x 10 ⁷	64 (0,05)	9,2 x 10 ⁶
	121 (0,05)		44 (0,05)	
	17 (0,005)		3 (0,005)	
Синий	152 (0,05)	3,55 x 10 ⁷	98 (0,05)	2,21 x 10 ⁷
	130 (0,05)		154 (0,05)	
	25 (0,005)		8 (0,005)	

с мощностью 25 мВт, плотностью мощности 3 мВт/см² и экспозициями 3 и 5 мин.

Все эксперименты проводились в трехкратных повторах – см. табл. 1-3.

Четыре серии экспериментов были контрольными: К1 – рост *E. coli* без ФС и облучения; К2 – без воздействия светом, но с обработкой одним из трех ФС; К3 – рост *E. coli* без ФС после воздействия излучения одного из четырех цветов в течение 5 мин. и без обработки ФС; К4 – то же, что и в К3, но с экспозицией облучения 3 мин.

В основных сериях опытов изучалась чувствительность *E. coli* к фотодинамическому эффекту сочетания последовательной обработки культур ФС, а затем излучением различных цветов.

Подсчитывалось число выросших в чашках колоний и определялось число колониобразующих единиц (КОЕ) на 1 мл засеянной культуры *E. coli*.

Результаты и их обсуждение

На рис. 4 представлен внешний вид контрольных чашек К1 (два разных засеваемых объема) и К2 (три различных ФС), не подвергавшихся облучению светом.

Количественные данные контрольных экспериментов представлены в табл. 1. Как видно, воздействие на *E. coli* лишь ФС либо только светом не приводит к желаемому эффекту – снижению числа выросших колоний. Исключение составляет 1% во-

дный раствор метиленового синего, который обладает самостоятельной антимикробной активностью, но рассматриваемый в данном исследовании не как

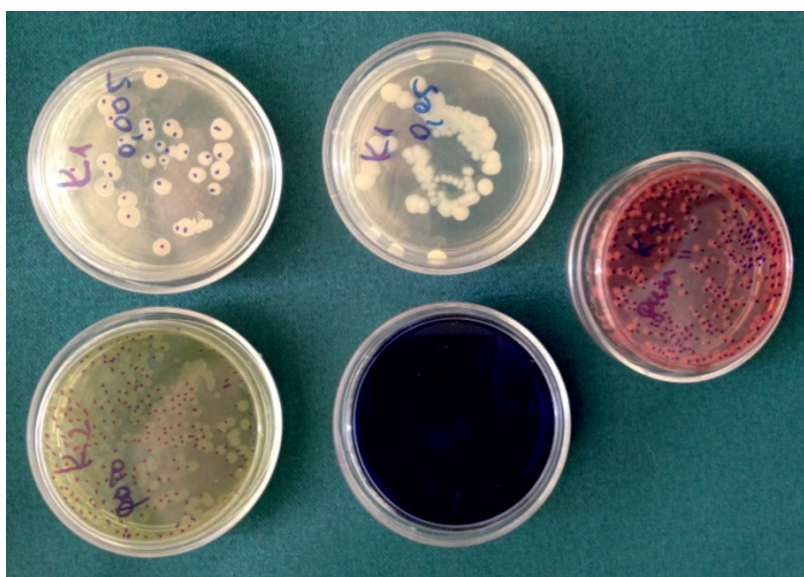


Рис. 4. Контрольные чашки (серии К1 и К2).

антибактериальное средство, а как фотосенсибилизатор для проведения фотодинамической терапии.

В основной серии опытов, где изучалось антимикробное действие димегина на культуру *E. coli* в сочетании с последующим воздействием излучения разных цветов, было получено (табл. 2), что с точки зрения подавления роста колоний наиболее эффективно использование фиолетового света (рис. 5), что соответствует вышеприведенным данным о максимуме поглощения данного ФС именно в этой области длин волн (см. рис. 1).

По результатам основной серии опытов, где изучался антимикробный эффект сочетания фо-

тодитазина и облучения с разной длиной волны (табл. 3), также оказалось, что для подавления роста культуры *E. Coli* наиболее эффективен фиолетовый свет (рис. 6), хотя и в меньшей степени.

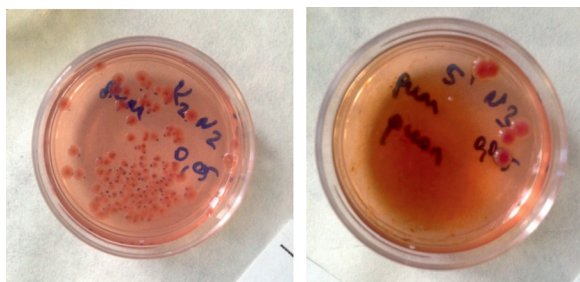


Рис. 5. Разное количество выросших колоний в необлученном контроле K2 (слева) и в опыте с использованием димегина и фиолетового света при экспозиции 5 мин. (справа)

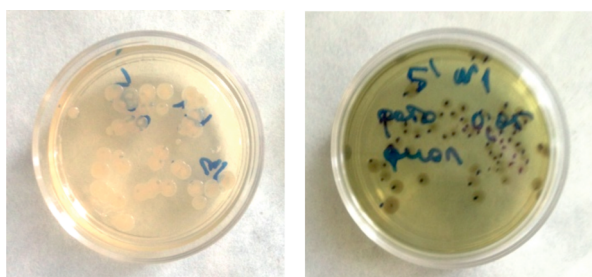


Рис. 6. Разное количество выросших колоний в необлученном контроле K2 (слева) и в опыте с использованием фотодитазина и фиолетового света при экспозиции 5 минут (справа).

В опытных чашках с метиленовым синим роста колоний через 24 часа не наблюдалось. Только через 48 часов наблюдались точечные единичные колонии в одном из трех вариантов при воздействии фиолетового и синего света (рис. 7).

При выбранных экспозициях дозозависимости фотодинамической терапии не наблюдалось.



Рис. 7. Результаты опыта с метиленовым синим. Точечные колонии.

В дальнейших исследованиях предполагается изменение времени и концентрации раствора метиленового синего.

Выводы

Само по себе воздействие светового излучения не приводит к подавлению роста культуры *E. Coli*. Из трех испытанных ФС самостоятельный антимикробный эффект проявил только 1% водный раствор метиленового синего ($K1 = 4,23 \times 10^7$, $K2_{мс} = 2 \times 10^5$ КОЕ/мл). После воздействия на обработанные метиленовым синим культуры красным, зеленым, синим и фиолетовым светом с мощностью 25 мВт в течение 5 минут рост *E. Coli* не наблюдался, что также свидетельствует о бактерицидном эффекте самого ФС.

При использовании димегина как ФС наибольший антимикробный эффект дало воздействие фиолетовым светом с экспозицией 5 минут. Сходный результат получен и при воздействии фиолетового света после обработки культуры фотодитазином.

Полученные *in vitro* результаты опытов свидетельствуют о перспективности ФДТ в качестве антибактериального лечения инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта.

Література

1. Бургунский В.Г. Теоретические и практические аспекты применения лазеров в стоматологии // Современная стоматология.- 2007.- №1.- С.10-15.
2. Карандашов В.И. Фототерапия. Под редакцией академика Н.Р.Палева / В.И.Карандашов, Е.Б.Петухов, В.С.Зродников.- М.: Медицина, 2001.- 389 с.
3. Миронов А.Ф. Фотодинамическая терапия рака — новый эффективный метод диагностики и лечения злокачественных опухолей // Соросовский образовательный журнал.- 1999.- №6.- С.32-40.
4. Наумович С.А. Новое в лечении заболеваний периодонта: фотодинамическая терапия / С.А.Наумович, В.Ю.Плавский, П.Т.Петров, А.В.Кувшинов // Современная стоматология.- 2007.- №2.- С.27-29.
5. Соколов В.В. Фотодинамическая терапия. Возможности и перспективы // Международный конгресс «Лазер и здоровье 99».- М., 1999.- С.413-414.
6. Странадко Е.Ф. Роль фотодинамической терапии в хирургии //Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 20-летию ФГУ «ГНЦ лазерной медицина Росздрава».- М., 2006.- С.157-158.
7. Толстых П.И. Фотодинамическая и NO-терапия гнойных ран / П.И.Толстых, В.А.Дербенев, А.И.Гусейнов и др. //Лазерная медицина.- 2004.- Т.8, №3.- С.15-27.
8. Komerik N. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model / N.Komerik, H.Nakanishi, A.J.MacRobert et al. // Antimicrob. Agents Chemother.- 2003.- Vol.47.- P.932-940.

**АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ
РІЗНИХ ФОТОСЕНСІБІЛІЗАТОРІВ (ДОСЛІДЖЕННЯ IN VITRO)**

¹Куцевляк В.Ф., ¹Пушкар Л.Ю., ¹Северин Л.В., ¹Велигоря І.Є.,
²Войда Ю.В., ²Бірюкова С.В., ³Коробов А.М., ⁴Пономарьов Г.В.,
¹Харківська медична академія післядипломної освіти (ХМАПО),
кафедра стоматології та терапевтичної стоматології,
вул. Трінклера, 6, м Харків, Україна, тел.: +38(057)705-17-55;
²Харківська медична академія післядипломної освіти (ХМАПО),
Кафедра клінічної імунології та мікробіології ХМАПО,
вул. Пушкінська, 14, м Харків, Україна, тел.: +38(057)731-19-59;
³Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна,
лабораторія квантової біології та квантової медицини,
майдан Свободи, 4, м Харків, 61022, Україна,
e-mail: amkorobov@i.ua; тел.: +38(057)705-51-91
⁴Науково-дослідний інститут біомедичної хімії
імені В.Н.Ореховіча РАМН, м. Москва, Росія

Досліджено антимікробний ефект впливу на стандартні культури *E. coli* протягом 3 або 5 хвилин фіолетовим, синім, зеленим або червоним випромінюванням світлодіодів з потужністю 25 мВт і щільністю потужності 3 мВт/см² після обробки цих культур розчинами фотосенсибілізаторів дімегіна (0,35%), фотодітазину (0,5%) і метиленового синього (1%).

Встановлено, що вплив тільки світлом або тільки фотосенсибілізатором не приводить до пригнічення росту культури *E. coli*, за винятком 1% розчину метиленового синього, який виявляв самостійний антимікробний ефект. Зростання *E. coli* не спостерігається і після впливу на оброблені метиленовим синім культури червоним, зеленим, синім і фіолетовим світлом, що також вказує на бактерицидний ефект самого фотосенсибілізатора.

При використанні дімегіна найбільший антимікробний ефект дало вплив фіолетовим світлом з експозицією 5 хв. Подібний результат отримано і при дії фіолетового світла після обробки культури фотодітазином. Отримані *in vitro* результати дослідів свідчать про перспективність фотодинамічної терапії в якості антибактеріального лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, *E. coli*, дімегін, фотодітазін, метиленовий синій, випромінювання світлодіодів.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHOTODYNAMIC THERAPY USING VARIOUS
PHOTOSENSITIZERS (STUDY IN VITRO)**

¹Kutsevlyak V.F., ¹Pushkar L.Y., ¹Severin L.V., ¹Veligorya I.E.,
²Voیدا Yu.V., ²Biryukova S.V., ³Korobov A.M., ⁴Ponomarev G.V.
¹Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (KhMAPE)
Department of dentistry and restorative dentistry,
st. Trinklera, 6, Kharkov, Ukraine, tel. +38(057)705-17-55;
²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (KhMAPE),
Department of Clinical Immunology and Microbiology KhMAPE,
st. Pushkinskaya, 14, Kharkov, Ukraine Tel. : +38(057)731-19-59;
³Kharkiv National University. V.N.Karazin,
Laboratory of quantum biology and quantum medicine,
Svobody sq., 4, Kharkov, 61022, Ukraine,
e-mail: amkorobov@i.ua; tel.: +38(057)705-51-91
⁴V.N.Orehovych Scientific and Research Institute
of Biomedical Chemistry RAMS, Moscow, Russia

We investigated the effect on the antimicrobial standard *E. coli* culture for 3 or 5 minutes, violet, blue, green or red LED radiation with a power of 25 mW and a power density of 3 mW/cm² after the treatment of these crops with solutions of photosensitizers dimegina (0.35%) Photoditazin (0.5%) and methylene blue

(1%). It is found that the effect of light only, or the photosensitizer alone does not suppress the growth of culture E. coli, except for a 1% solution of methylene blue which showed independent antimicrobial effect. Growth of E. coli was observed after exposure to methylene blue-treated culture of red, green, blue and violet light, which also points to the bactericidal effect of the photosensitizer.

When using dimegina greatest antimicrobial effect given the impact of violet light with an exposure of 5 minutes. A similar result was obtained when exposed to violet light after treatment photodithazine culture. The in vitro results of experiments indicate the prospects of photodynamic therapy as an antibacterial treatment of infectious and inflammatory diseases of the oral cavity.

Keywords: *photodynamic therapy, E. coli, dimegin, photodithazine, methylene blue, LED lights.*

ФОТОБАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО НАНОКОМПОЗИТА С МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ

Долинский Г.А., *Самченко Ю.М., *Пасмурцева Н.А.,
*Полторацкая Т.П., *Ульберг З.Р., Кислухина М.А., Гамалея Н.Ф.

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
имени Р.Е. Кавецкого НАН Украины,
03022 Украина, г. Киев, ул. Васильковская, 45,
тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gydy@yandex.ua

*Институт биокolloидной химии имени Ф.Д. Овчаренко НАН Украины,
03680 Украина, г. Киев, бульвар Вернадского, 42,
тел.: +38(063)393-72-88, e-mail: yu1sam@yahoo.com

*Синтезирован гидрогелевый нанокomпозит, который при нагревании до температуры тела человека высвобождает в раствор сорбированный метиленовый синий, сохраняя его фотосенсибилизирующую активность. Смывы с поверхности гидрогеля, инкубированного в течение суток при 37 °С с культурами *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, после облучения лазером $\lambda = 658$ нм в дозе 15 Дж/см² и 30 Дж/см², соответственно, были изучены методом бактериологического посева на мясо-пептонный агар. Установлена выраженная фотобактерицидная активность нанокomпозита с метиленовым синим в отношении как грамположительной, так и грамотрицательной бактериальной культуры. Сделан вывод о перспективности его использования в качестве терморегулируемой системы доставки метиленового синего к очагу воспаления для проведения антибактериальной фотодинамической терапии.*

Ключевые слова: фотобактерицидная активность, метиленовый синий, гидрогелевый нанокomпозит, термоиницированная диффузия.

Введение

Антимикробная фотодинамическая терапия – одно из перспективных направлений борьбы с мультирезистентностью возбудителей инфекций мягких тканей, все чаще встречающейся в клинической практике [14]. В качестве фотосенсибилизаторов с этой целью широко применяются фенотиазиновые красители, наиболее известный из которых – метиленовый синий долгое время использовался как антисептик, не токсичный для организма в терапевтических дозах и обладающий большей тропностью к прокариотическим клеткам, чем к эукариотическим [10]. Высокий молярный коэффициент экстинкции при поглощении в диапазоне «окна проницаемости» биологических тканей и значительный квантовый выход образования синглетного кислорода обуславливают его привлекательность для получения фотодинамического эффекта, однако стандартные растворы метиленового синего, выпускаемые фармацевтической промышленностью, мало пригодны для этой цели потому, что при парентеральном введении быстро

метаболизируются с образованием лейко-формы, не обладающей фотохимической активностью [1]. Увеличение концентрации препарата также не дает желаемого результата, поскольку в присутствии электролитов в водных растворах происходит димеризация молекул метиленового синего и, хотя их адсорбция бактериальной стенкой усиливается [13], при облучении преобладают фотохимические реакции I типа, идущие с образованием свободных радикалов, а не синглетного кислорода [3].

В последние годы предложены разнообразные системы доставки фотосенсибилизатора, в частности, полимерные и неорганические наночастицы, при помощи которых обеспечивается его накопление в патологическом очаге [6, 9]. По нашему мнению, наибольшего внимания заслуживают так называемые «умные» гидрогели, которые способны резко и прогнозируемым образом изменять свои физико-химические параметры (степень набухания, пористость, диффузионную проницаемость, и т.п.) под воздействием незначительных изменений в окружающей среде [5]. Особый ин-

терес представляют термочувствительные гидрогели на основе N-изопропилакриламида, которые при нагревании переходят из развернутой конформации в компактное дегидратированное состояние, высвобождая сорбированные за счет водородных связей значительные количества воды [4, 7]. Зона фазового перехода между набухшим и сколлапсированным состоянием у этих гидрогелей близка к температуре человеческого тела и может сдвигаться в сторону более высоких или более низких температур при сополимеризации с гидрофильными или гидрофобными мономерами, соответственно [8].

Мы предположили, что описанная терморегулируемая система доставки будет не только предохранять метиленовый синий от нежелательной метаболизации, но и позволит оптимизировать его фармакокинетику в соответствии с применяемым протоколом фотодинамической терапии. Исходя из этого, **целью** данной работы было изучение *in vitro* фотобактерицидной активности метиленового синего, диффундирующего при температуре 37 °C из термочувствительного гидрогелевого нанокompозита в среду культивирования грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Материалы и методы

Синтез гидрогелевого нанокompозита осуществляли на основе N-изопропилакриламида (97%, Sigma-Aldrich, USA) и лапонита (Conservation Resources International LLC, UK), диспергированных в соотношении 3:1, выдерживая на ультразвуковой бане в течение 5 минут, после чего композицию продували азотом при температуре около 0 °C и помещали для проведения полимеризации между двумя стеклянными пластинами, разделенными спейсерами заданной толщины. Через сутки пластины разнимали и образованный нанокompозит отмывали от непрореагировавших остатков путем экстракции в воде в течение трех суток.

Образцы геля в виде дисков массой $7,8 \pm 0,5$ мг помещали при температуре 5 °C в 0,025 % водный раствор метиленового синего (Новохим, Украина) на 1 сутки. Насыщенные фотосенсибилизатором диски промывали гипертоническим раствором (1,2 % NaCl), оставляли на 24 ч в 1 мл изотонического раствора (0,9 % NaCl) при 37 °C, после чего регистрировали кривые абсорбции диффундировавшего из них метиленового синего при помощи спектрофотометра ND-1000 (NanoDrop, USA). В полученные пробы также вносили специфический флуоресцентный индикатор синглетного кислорода Singlet Oxygen Sensor Green (Molecular Probes, USA) до конечной концентрации 2 мкМ и облучали их красным светом полупроводнико-

вого лазера $\lambda = 658$ нм (Фотоника Плюс, Украина), устанавливая плотность мощности 25 мВт/см² при помощи измерителя Ophir Nova II (Ophir Optronics, Israel). Уровень продукции синглетного кислорода оценивали по интенсивности флуоресценции раствора в диапазоне $\lambda_{em} = 525-530$ нм, измеренной спектрофлуориметром ND-3200 (NanoDrop, USA) по достижении расчетных доз облучения 15 Дж/см² и 30 Дж/см².

Для микробиологических исследований гелевые диски обрабатывали в условиях стерильности, нанося на них по 20 мкл суспензии, приготовленной *ex tempore* из исходных культур *Staphylococcus aureus* либо *Escherichia coli* разведением физиологическим раствором (0,9 % NaCl) до содержания в 1 мл 4×10^4 колониеобразующих единиц (КОЕ). После инкубации в стерильных чашках Петри при 37 °C в течение суток половину образцов облучали лазером $\lambda = 658$ нм, при плотности мощности 25 мВт/см² и дозе 15 Дж/см² для *S. aureus* и 30 Дж/см² для *E. coli*. Смывы с облученных и необлученных гелей, сделанные стерильным физиологическим раствором, изучали методом посева на мясо-пептонном агаре, проводя учет роста микроорганизмов через 24 ч инкубации при 37 °C. В качестве контроля роста культур использовали посев таких же суспензий, выдержанных в течение суток при 37 °C в стерильных чашках Петри.

Статистическую обработку данных проводили средствами Пакета анализа Microsoft® Office Excell 2003.

Результаты и их обсуждение

Образцы геля после экспозиции в растворе метиленового синего значительно увеличивались в объеме, достигая массы $185,6 \pm 17,4$ мг (более чем в 20 раз выше исходной, $P < 0,001$) и приобретали интенсивно-синюю окраску. При этом оптическая плотность инкубационного раствора существенно снижалась (рис. 1).

Сорбционная способность гидрогеля, рассчитанная по разности измеренных концентраций метиленового синего, составила 28,2 мг/г. По-видимому, кроме поглощения вместе с растворителем в процессе набухания, проявлялся и концентрирующий эффект за счет взаимодействия N⁺ молекул фотосенсибилизатора с отрицательными зарядами на поверхности лапонита [2]. Поэтому оптическая плотность метиленового синего в геле была многократно выше, чем в насыщающем растворе, а пик абсорбции смещался в коротковолновую сторону (рис. 2).

Во время инкубации насыщенных гидрогелевых дисков в изотоническом растворе натрия

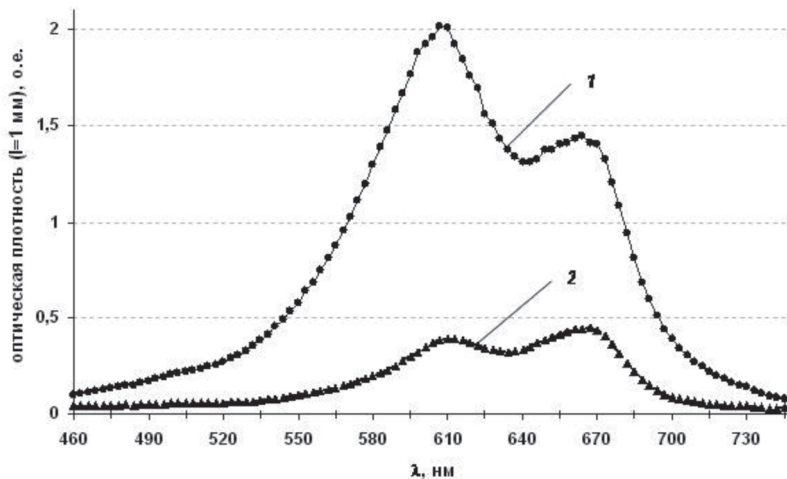


Рис. 1. Оптическая плотность 0,025 % раствора метиленового синего до (1) и после (2) инкубации в нем гидрогелевого диска в течение суток

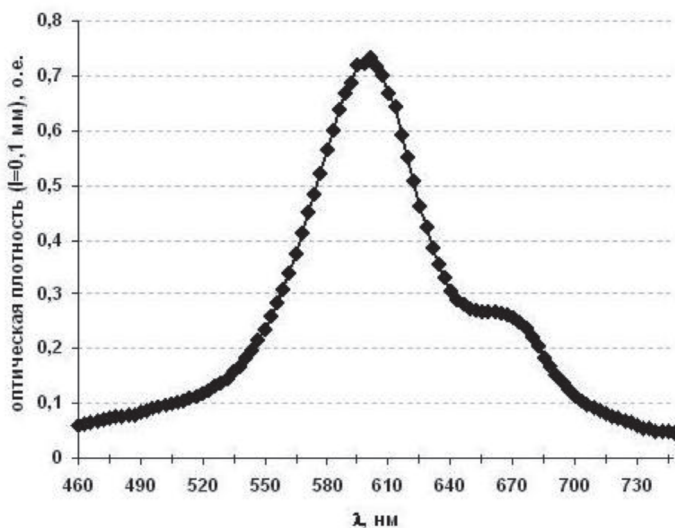


Рис. 2. Оптическая плотность гидрогелевого нанокompозита, насыщенного метиленовым синим в 0,025 % водном растворе при температуре 5 °C

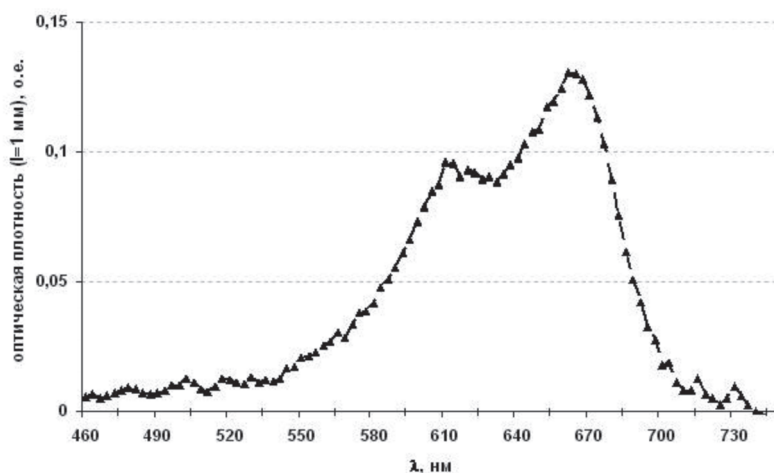


Рис. 3. Оптическая плотность раствора метиленового синего, полученного за счет диффузии из гидрогелевого диска в течение 24 ч инкубации в физиологическом растворе при 37 °C

хлорида при 37 °C происходила десорбция метиленового синего (рис. 3).

Два пика поглощения полученного раствора, свидетельствуют о присутствии как мономерной ($\lambda_{\text{abc}} = 660$ нм), так и димерной ($\lambda_{\text{abc}} = 610$ нм) формы фотосенсибилизатора. Поскольку при фотоактивации агрегированных молекул повышается вероятность реакций, связанных с переносом электронов, а не передачей энергии возбужденного состояния на кислород, соотношение мономерной и димерной форм метиленового синего влияет на уровень продукции синглетного кислорода [10]. Облучение лазером $\lambda = 658$ нм образовавшегося в результате десорбции из гидрогелевого носителя раствора с добавлением Singlet Oxygen Sensor Green сопровождалось появлением характерной флуоресценции в диапазоне $\lambda_{\text{em}} = 685\text{--}690$ нм, интенсивность которой возрастала с увеличением экспозиционной дозы, в то время как собственная флуоресценция метиленового синего в диапазоне $\lambda_{\text{em}} = 687$ нм оставалась на прежнем уровне (рис. 4).

Следовательно, после терминицированной диффузии из гидрогелевого нанокompозита метиленовый синий сохранял способность к фотоактивации, сопровождающейся дозозависимой генерацией синглетного кислорода.

Насыщенный метиленовым синим гель обладал бактерицидной активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, многократно усиливаемой за счет фотодинамического эффекта (рис. 5, 6).

В смывах с поверхности насыщенного метиленовым синим гидрогеля, наблюдалось снижение роста *Staphylococcus aureus* почти в 6 раз, по сравнению с

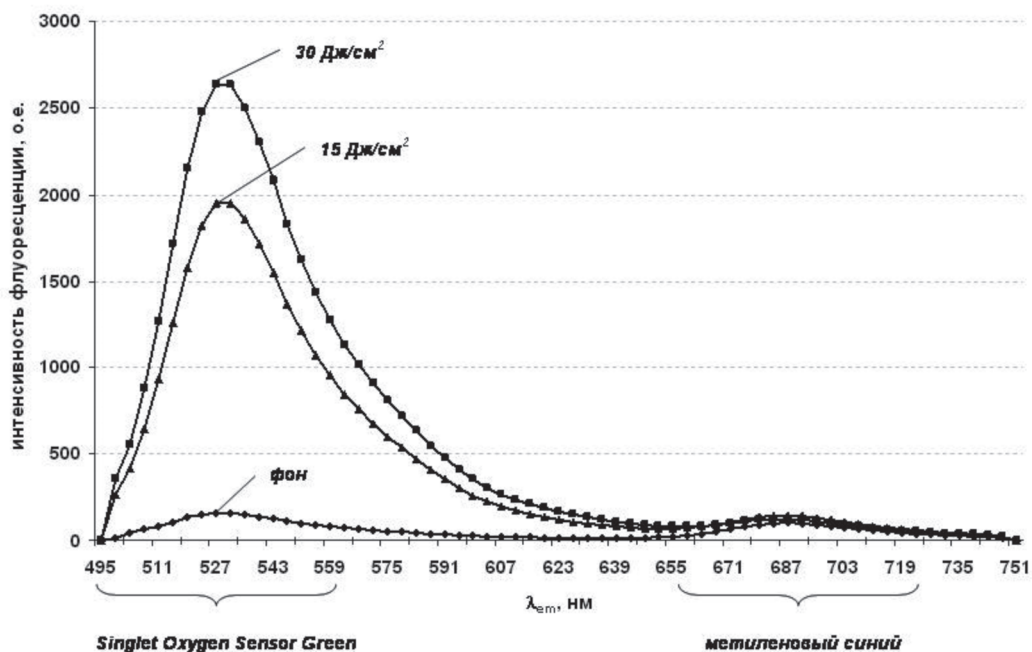


Рис. 4. Спектрофлуориметрические кривые проб десорбированного метиленового синего, облученных лазером $\lambda = 658$ нм после добавления индикатора синглетного кислорода Singlet Oxygen Sensor Green

Таблица 1

Фотобактерицидный эффект на поверхности гидрогелевого нанокompозита

Культура микроорганизмов	Жизнеспособность микроорганизмов, КОЕ/мл		
	Контрольный посев	Смывы с гидрогеля, насыщенного метиленовым синим	
		Без облучения	С облучением*
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3,02 \pm 0,21 \times 10^4$	$5,20 \pm 0,35 \times 10^3$	$1,20 \pm 0,10 \times 10^3$
	P<0,01		P<0,01
<i>Escherichia coli</i>	$2,22 \pm 0,12 \times 10^4$	$10,25 \pm 0,35 \times 10^3$	$1,65 \pm 0,15 \times 10^3$
	P<0,01		P<0,01

* Доза облучения для *S. aureus* – 15 Дж/см², для *E. coli* – 30 Дж/см²

контрольными посевами, и в 25 раз – после облучения, а для *Escherichia coli*, соответственно, более чем в 2 раза и в 13,5 раз – после облучения (табл. 1).

Важно отметить, что на поверхности гидрогелевого нанокompозита с метиленовым синим

после термоиницированной диффузии создавались условия для фотобактерицидного эффекта в отношении не только грамположительных (*Staphylococcus aureus*), но и грамотрицательных (*Escherichia coli*) микроорганизмов, хотя в последнем случае для преодоления гидрофобной

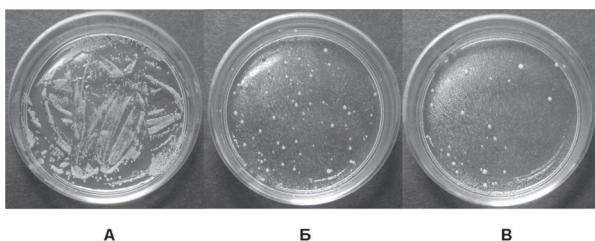


Рис. 5. Рост колоний *Staphylococcus aureus* через 24 ч после посева ~800 КОЕ:

А – исходная суспензия; Б – смыв с насыщенного метиленовым синим гидрогеля без облучения; В – смыв с насыщенного метиленовым синим гидрогеля после облучения лазером $\lambda = 658$ нм в дозе 15 Дж/см²

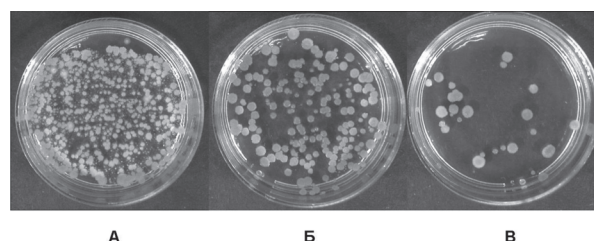


Рис. 6. Рост колоний *Escherichia coli* через 24 ч после посева ~800 КОЕ:

А – исходная суспензия; Б – смыв с насыщенного метиленовым синим гидрогеля без облучения; В – смыв с насыщенного метиленовым синим гидрогеля после облучения лазером $\lambda = 658$ нм в дозе 30 Дж/см²

оболочки потребується значительно более высокая концентрация молекул фенотиазинового фотосенсибилизатора в растворе [11, 12]. Очевидно, соотношение мономерных форм и молекулярных агрегатов десорбированного метиленового синего создавало условия как для эффективного контакта с бактериальными клетками, так и для генерации синглетного кислорода.

Выводы

Таким образом, синтезированный нами гидрогелевый нанокompозит может быть предложен в качестве системы доставки метиленового синего, обеспечивающей его высвобождение при температуре тела человека, что повысит эффективность проведения антибактериальной фотодинамической терапии.

Литература

- Blazquez-Castro A. Differential photodynamic response of cultured cells to methylene blue and toluidine blue: role of dark redox processes / A. Blazquez-Castro, J.C. Stockert, F. Sanz-Rodriguez, A. Zamarron, A. Juarranz // Photochem. Photobiol. Sci. – 2009. – Vol. 8. – P. 371–376.
- Li P. Poly(acrylamide/laponite) nanocomposite hydrogels: swelling and cationic dye adsorption properties / P. Li, Siddaramaiah, G.-H. Yoo, J.-H. Lee // J. Appl. Polym. Sci. – 2009. – Vol. 111. – P. 1786–1798.
- Nuñez S.C. Urea enhances the photodynamic efficiency of methylene blue / S.C. Nuñez, T.M. Yoshimura, M.S. Ribeiro, et al. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 2015. – <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.018>
- Plate N.A. Lower critical solution temperature in aqueous solutions of N-alkyl-substituted polyacrylamides / N.A. Plate, T.L. Lebedeva, L.I. Valuev // Polymer J. – 1999. – Vol. 31. – P. 21–27.
- Samchenko Yu. Multipurpose smart hydrogel systems / Yu Samchenko, Z. Ulberg, O. Korotych // Adv. Colloid Interface Sci. – 2011. – Vol. 168. – P. 247–262.
- Seong D.-Y. Enhanced photodynamic therapy efficacy of methylene blue-loaded calcium phosphate nanoparticles / D.-Y. Seong, Y.-J. Kim // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 2015. – Vol. 146. – P. 34–43.
- Shah N. Formulation and development of hydrogel for poly acrylamide-co-acrylic acid / N. Shah, K.R. Pate // JPSBR. – 2014. – Vol. 4, No. 1. – P. 114–120.
- Spizzirri U.G. Innovative antioxidant thermo-responsive hydrogels by radical grafting of catechin on inulin chain / U.G. Spizzirri, I. Altimari, F. Puoci, et al. // Carbohydrate Polymers. – 2011. – Vol. 84. – P. 517–523.
- Tang W. Encapsulation of methylene blue in polyacrylamide nanoparticle platforms protects its photodynamic effectiveness / W. Tang, H. Xu, E.J. Park, M.A. Philbert, R. Kopelman // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2008. – Vol. 369, No 2. – P. 579–583.
- Tardivo J.P. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications / J.P. Tardivo, A. Del Giglio, C.S. de Oliveira et al. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2005. – Vol. 2. – P. 175–191.
- Usacheva M.N. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms / M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // Lasers in Surgery and Medicine. – 2001. – Vol. 29. – P. 165–173.
- Usacheva M.N. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes / M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // Lasers in Surgery and Medicine. – 2003. – Vol. 33. – P. 311–319.
- Usacheva M.N. The role of the methylene blue and toluidine blue monomers and dimers in the photoinactivation of bacteria / M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. – 2003. – Vol. 71. – P. 87–98.
- Wainwright M. Photodynamic medicine and infection control / Mark Wainwright // J. Antimicrob. Chemother. – 2012. – Vol. 67. – P. 787–788.

ФОТОБАКТЕРИЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ТЕРМОЧУТЛИВОГО ГІДРОГЕЛЕВОГО НАНОКОМПОЗИТУ З МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ

Долинський Г.А., *Самченко Ю.М., *Пасмурцева Н.О.,
*Полторацька Т.П., *Ульберг З.Р., Кіслухіна М.О., Гамалія М.Ф.
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р.Є. Кавецького НАН України,
03022 Україна, м. Київ, вул. Васильківська, 45,
тел.: +38(044)258-16-58, e-mail: gudy@yandex.ua
*Інститут біологічної хімії імені Ф.Д. Овчаренка НАН України,
03680 Україна, м. Київ, бульвар Вернадського, 42,
тел.: +38(063)393-72-88, e-mail: yu1sam@yahoo.com

Синтезовано гідрогелевий нанокompозит, який при нагріванні до температури тіла людини вивільняє у розчин сорбований метиленовий синій, зберігаючи його фотосенсибілізуючу активність. Змиви з поверхні гідрогелю, інкубованого впродовж доби при 37 °С з культурами *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*, після опромінення лазером $\lambda = 658$ нм в дозі 15 Дж/см² і 30 Дж/см², відповідно, були вивчені методом бактеріологічного посіву на м'ясо-пептонний агар. Встановлена виражена

фотобактерицидна активність нанокompозиту з метиленовим синім як до грампозитивної, так і до грамнегативної бактеріальної культури. Зроблено висновок про перспективність його застосування в якості терморегульованої системи доставки метиленового синього до вогнища запалення для проведення антибактеріальної фотодинамічної терапії.

Ключові слова: фотобактерицидна активність, метиленовий синій, гідрогелевий нанокompозит, термоініційована дифузія.

PHOTOBACTERICIDAL PROPERTIES OF THERMOSENSITIVE HYDROGEL NANOCOMPOSITE WITH METHYLENE BLUE

*Dolynskiy G.A., *Samchenko Yu.M., *Pasmurtseva N.O.,
*Poltoratska T.P., *Ulberg Z.R., Kislukhina M.A., Gamaleia N.F.
R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology NAS of Ukraine
45, Vasylykivska Str, 03022, Kyiv, Ukraine
tel.: +38(044)258-16-58, e-mail: gydy@yandex.ua
*F.D. Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry NAS of Ukraine
42, Vernadsky Blvd, 03680, Kyiv, Ukraine
tel.: +38(063)393-72-88, e-mail: yu1sam@yahoo.com*

*A hydrogel nanocomposite was synthesized, which released deposited methylene blue at temperature of human body, preserving its photosensitizing activity. The hydrogel samples were contaminated by *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* and after 24 h incubation at 37 °C irradiated with diode laser; $\lambda = 658 \text{ nm}$ at the doses of 15 J/cm^2 and 30 J/cm^2 , respectively. Swabs from the hydrogel samples surfaces were studied using CFU counts on plain agar. Evident photobactericidal activity of the nanocomposite with methylene blue was revealed, both towards gram-positive and gram-negative microorganisms. Availability of the proposed hydrogel composition exploiting as thermally controlled vehicle for methylene blue delivery to the inflammation nidus in antimicrobial photodynamic therapy was concluded.*

Keywords: photobactericidal activity, methylene blue, hydrogel nanocomposite, thermally induced diffusion.

**ОПОСЕРЕДКОВАНА МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ ФОТОДИНАМІЧНА
ІНАКТИВАЦІЯ МУЗЕЙНОГО ТА КЛІНІЧНОГО ШТАМІВ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS.**

¹Радченко О.С., ¹Степура Л.Г., ¹Горбенко К.І., ²Гамалія М.Ф.

¹ІННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна,
тел./факс: +38(044)521-35-98, decanat_bf@univ.kiev.ua

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р.Є. Кавецького НАН України,
вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна,
тел.: 38(044)259-01-83, факс 38 (044) 258-16-56, nauka@onconet.kiev.ua

Фотодинамічну інактивацію музейного і клінічного штамів Staphylococcus aureus здійснювали за концентрації метиленового синього 6-40 мкг/мл і лазерного опромінення (660 нм, щільність потужності 25 мВт/см²), упродовж 10, 20 та 30 хвилин, дози 15,3, 30,6 та 46 Дж/см², відповідно. Встановлено, що коливання концентрації фарбника в діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливає на ефективність фотоінактивації. Виживання клітин залежить від дози опромінення, оптимальне значення якої становило 30,6 Дж/см². Динаміка ураження клітин випробуваних штамів Staphylococcus aureus була схожа, а діапазон її складав 3,5-4,9 порядки. При концентрації фарбника в межах 2-20 мкг/мл відмічена певна різниця в інтенсивності інактивації досліджених штамів: максимальний ефект на Staphylococcus aureus ATCC 6538 спостерігався за 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на Staphylococcus aureus 48011 - за 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутність у середовищі сироватки крові призводила до помірного блокування антимікробного фотодинамічного ефекту.

Ключові слова: фотодинамічна дія, фотосенсибілізатор метиленовий синій, Staphylococcus aureus.

Вступ

Широке використання у медичній практиці і розповсюдження у довкіллі різноманітних природних (антибіотики) та синтетичних (ксенобіотики) речовин, що володіють антимікробними властивостями, породжують формування у мікроорганізмів множинної резистентності до протимікробних препаратів. Тому, на сьогодні є дуже актуальною розробка нових підходів до проблеми ефективного контролю розвитку патогенних мікроорганізмів.

Один з таких нових методів боротьби з антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів є антитимікробна фотодинамічна терапія (ФДТ). Запроваджені також поняття фотоактивована дезінфекція та фотодинамічна інактивація. В основі цих підходів лежить застосування фарбника-фотосенсибілізатора, зазвичай порфіриновмісної сполуки, яка при фотоактивації видимим світлом відповідної довжини хвилі генерує *реактивні*

форми кисню, цитотоксичні для бактеріальних клітин: синглетний кисень і вільні радикали [5, 6, 11]. Формування у мікроорганізмів резистентності до ФДТ - процес малоймовірний, тому що реактивні форми кисню мають різноманітні мішені дії: різні структури клітини і різні метаболічні шляхи [4].

Існують два можливі молекулярні механізми реалізації ФДТ. Згідно механізму першого типу, збуджений світлом фотосенсибілізатор спричиняє утворення вільних радикалів, котрі реагують з ліпідами і білками мікробної клітини, а це призводить до ланцюгової реакції накопичення додаткових окиснених продуктів. За механізмом другого типу, енергія з триплетного стану збудженого фотосенсибілізатора передається молекулярному кисню, внаслідок чого утворюється високореактивний синглетний кисень. Синглетний кисень може як безпосередньо реагувати з молекулами клітин, що знаходяться близько до

нього, так і утворювати додаткові кисневі радикали [3, 11].

Одним з найпоширеніших фотосенсибілізаторів є малотоксичний фарбник феноліазинового класу метиленовий синій, який за іншим призначенням широко застосовується у гістологічній практиці, але проявляє також фототоксичну дію на ракові клітини, віруси та гриби [9]. На даний час існує низка робіт, присвячених фотоінактивації *Staphylococcus aureus* з використанням різних концентрацій метиленового синього та широко варіюючих доз світлового випромінювання видимого спектра, але результати цих досліджень, навіть на планктонних клітинах *in vitro*, дуже різняться між собою. У роботі Tubby et al. [10] суспензію клітин метицилін-резистентного штаму *Staphylococcus aureus* опромінювали лазерним світлом 665 нм (щільність потужності 32 мВт/см²) з 1-20 мкМ метиленового синього упродовж 1, 2 та 5 хвилин. Дози опромінення були відповідно 1,93; 3,86 та 9,65 Дж/см². Суспензія містила 10⁷ колонієутворюючих одиниць (КУО)/мл. Встановлено, що при дозі 1,93 Дж/см² і концентрації метиленового синього 10 мкМ інактивація клітин склала 2 lg а при 20 мкМ – 4 lg. Збільшивши дозу опромінення до 9,65 Дж/см² вдалося досягти інактивацію 6 lg клітин. В іншій роботі [8] було показано, що на ступінь інактивації бактерій впливала не так концентрація метиленового синього (25, 50 чи 100 мкг/мл), як доза лазерного опромінення ($\lambda = 660$ нм). Застосовували щільність потужності 0,091 Вт/см² при дозах 27,3; 54,6; 109,2 Дж/см². Час експозиції був відповідно 5, 10 і 20 хв., а початкова кількість клітин 10⁴-10⁵ КУО/мл. При дозі опромінення 109,2 Дж/см² спостерігали інактивацію *Staphylococcus aureus* на 99,03%, а *Staphylococcus epidermidis* – на 98,95%. Інактивація *Escherichia coli* за цих же умов була на рівні 92,23%.

У дослідженнях Gueorgieva T. et al. [4] вивчали фотодинамічне ураження *Staphylococcus aureus* у присутності чотирьох фотосенсибілізаторів: метиленового синього, гематопорфірину і двох нових Ga- і Zn-фталоціанінів. Було продемонстровано, що за концентрації метиленового синього 5 мкМ при експозиції діодного лазера ($\lambda = 660$ нм) 12 хвилин кількість живих клітин в 1 мл суспензії зменшувалася з 10⁸ до 10³, тобто на 5 lg. Автори наступної публікації [7] проводили фотоінактивацію планктонних клітин *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp.* з використанням розчину наночастинок метиленового синього з поліакріламідом і червоного світла ртутно-ксенонової лампи з довжиною хвилі 650 нм. Встановлено, що при

дозі 136,8 Дж/см² кількість життєздатних планктонних клітин стафілококу зменшувалася з 6,12 до 1,95 lg КУО/мл, кишкової палички – з 6,16 до 3,27, синьогнійної палички – з 6,09 до 3,77, а ацетобактера – з 6,09 до 3,92.

Беручи до уваги значне варіювання отриманих у наведених статтях результатів, зокрема і в залежності від використаного штаму тест-культури, метою даної роботи було визначити фотодинамічний ефект метиленового синього на два різні штами *Staphylococcus aureus* - музейний та клінічний.

Матеріали та методи.

Об'єктами дослідження були музейний штам *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та клінічний штам *Staphylococcus aureus* 48011, виділений від хворого на лейкемію мієлоїдного походження в ДУ «Інститут гематології та трансфузіології АМН України». Бактерії культивували на щільному середовищі Water Plate Count Agar (Oxoid) упродовж доби за 37°C. Робочу суспензію клітин, густиною 0,4-0,6 одиниць McF (Денсиламетр II, «Erba Lachema, Чехія») готували у фізіологічному розчині або фосфатному буфері (pH 7,0).

Як фотосенсибілізатор використовували розчин метиленового синього з концентрацією 400 мкг/мл. Для його приготування фарбник розчиняли у стерильній дистильованій воді та стерилізували фільтруванням через мембранний фільтр 0,2 мкм (Parker-Domnick Hunter, США).

Фотодинамічну інактивацію бактеріальних клітин здійснювали в одноразових стерильних чашках Петрі, діаметром 30 мм лазерним опроміненням (напівпровідниковий лазер, Фотоніка-плюс, м. Черкаси) при довжині хвилі 660 нм, щільності потужності 25 мВт/см², упродовж 10, 20 та 30 хвилин, дози 15,3, 30,6 та 46 Дж/см², відповідно).

Експерименти проводили за схемою [2] модифікованою нами. Суспензія, що опромінювалася, містила 10⁹ -10¹⁰ КУО/мл та 0,2-40 мкг/мл метиленового синього. КУО/мл визначали методом 10-кратних розведень з висівом 0,2 мл крайнього розведення газом на поверхню чашки Петрі з середовищем Water Plate Count Agar (Oxoid). Культури інкубували за 37°C, результати враховували через 24-48 годин. Контрольними були наступні зразки: контроль 1 - суспензія клітин у фізіологічному розчині без фотосенсибілізатора і без опромінення; контроль 2 – суспензія клітин у фізіологічному розчині без фотосенсибілізатора, але з опроміненням; контроль 3 – суспензія клітин у фізіологічному розчині з фотосенсибілізатором, але без опромінення. Результати обробляли статистично і наводили у вигляді десятичного логарифма показника виживання. Частку

клітин, що вижили, розраховували по відношенню N_t/N_0 , де N_t – це число бактерій, що вижили, а N_0 – початкова кількість бактерій, що містилася в суспензії [1].

Для з'ясування впливу білоквмісного середовища на фотодинамічний антимікробний ефект в суспензію бактеріальних клітин, приготовану на фосфатному буфері з 10 мкг/мл метиленового синього, вносили сироватку крові великої рогатої худоби у концентрації 10, 30 та 50%. Контролем слугувала суспензія клітин з метиленовим синім без сироватки, яка опромінювалася так само як і контрольні зразки за дози 30 Дж/см².

Результати та їх обговорення

Вживання музейного і клінічного штамів *Staphylococcus aureus* після фотодинамічної обробки за концентрації фотосенсибілізатора метиленового синього 6-40 мкг/мл і доз опромінення червоним світлом ($\lambda=660$ нм) 0-46 Дж/см² наведено на рисунках 1 і 2. Значення КУО/мл в контрольних зразках не змінювалося.

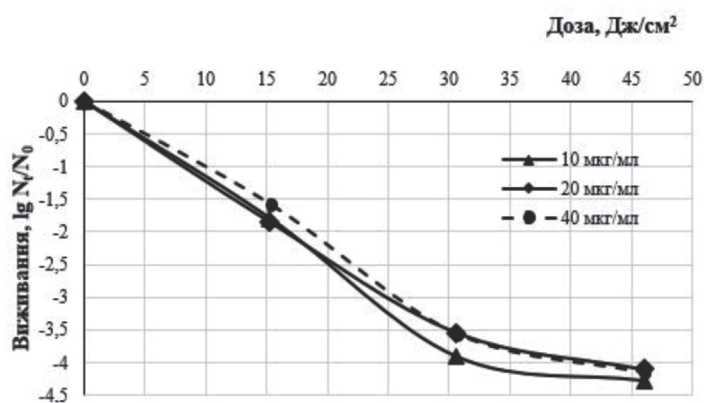


Рис. 1 Вживання *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 після фотодинамічної обробки ($\lambda = 660$ нм) з метиленовим синім

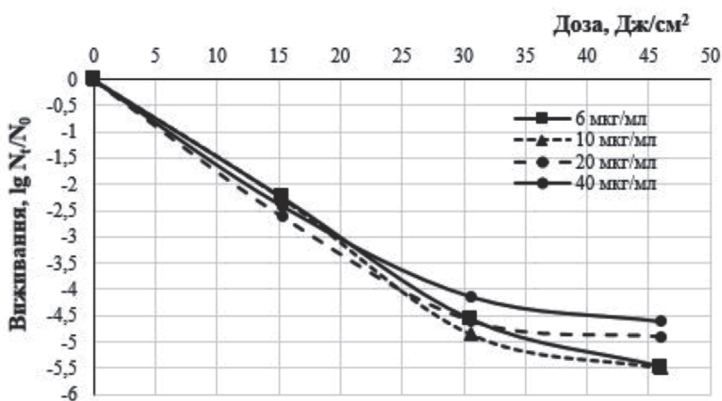


Рис.2 Вживання *Staphylococcus aureus* 48011 після фотодинамічної обробки ($\lambda = 660$ нм) з метиленовим синім

Як видно з рис.1, концентрація барвника у діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливала на ефективність фотоінактивції музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Вживання клітин залежало тільки від дози опромінення. Так, при дозі 15,3 Дж/см² кількість живих клітин зменшувалася на 1,6-1,9 порядки, при 30,6 Дж/см² – на 3,5-3,9 порядки, а при 46 Дж/см² – на 4,1-4,3 порядки. Оптимальною можна вважати дозу 30,6 Дж/см². Збільшення ж дози опромінення понад 30,6 Дж/см² покращувало фотодинамічний ефект несуттєво – всього на 0,4-0,6 порядки.

На рис.2 наведено результати аналогічних експериментів з клінічним штамом *Staphylococcus aureus* 48011. Як бачимо, ті ж самі закономірності мали місце і у цьому випадку: фотодинамічний ефект залежав не від концентрації метиленового синього (у діапазоні 6-40 мкг/мл), а від дози опромінення. Штам *Staphylococcus aureus* 48011 загалом був чутливішим, ніж музейний ATCC 6538. Так, при дозі опромінення 15,3 Дж/см² кількість живих клітин цього штаму зменшувалася на 2,3-2,6 порядки, при 30,6 Дж/см² – на 4,6-4,9 порядки, а при 46 Дж/см² – на 4,6-5,5 порядки. За оптимальну можна також прийняти дозу 30,6 Дж/см², тому що збільшення її покращувало фотодинамічний ефект максимум на 0,9 порядки.

Таким чином, за фотодинамічної обробки суспензії клітин бактерій *Staphylococcus aureus* лазерним опроміненням ($\lambda=660$ нм) в дозі 30,6 Дж/см², у присутності метиленового синього в концентрації 10-40 мкг/мл кількість життєздатних клітин зменшувалася на 3,5-4,9 порядки.

Прийнявши максимальний досягнутий в експериментах протимікробний ефект за 100%, ми оцінили рівень інактивності клітин при різних дозах опромінення. При цьому концентрація метиленового синього складала 10 мкг/мл (рис. 3).

Як видно з рис.3, динаміка загибелі бактеріальних клітин обох штамів *Staphylococcus aureus* була схожа.

Так, при дозі 15,3 Дж/см² інактивувалося 41,16 % *Staphylococcus aureus* 48011 і 41,92% *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, при 30,6 Дж/см² – 88,34 і 91,33 %. Підвищення дози опромінення до 46 Дж/см² збільшувало кількість загиблих клітин на 11,66 і 8,67%, відповідно.

Для визначення мінімальної концентрації фотосенсибілізатора метилено-

вого синього, який спричиняє фотодинамічний ефект, застосовували опромінення з дозою 30,6 Дж/см², а концентрація фарбника варіювала від 40 до 0,2 мкг/мл. Отримані результати наведено на рис. 4.

Як видно з рис.4, за концентрації метиленового синього 0,2 мкг/мл достовірний фотодинамічний ефект щодо обох штамів стафілококу не спостерігався, а за 0,6 і 1 мкг/мл був незначним (0,8-2,8 порядки). Подальше збільшення концентрації фарбника по-різному впливало на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 і *Staphylococcus aureus* 48011.

Інтенсивність загибелі клітин штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 при підвищенні концентрації фотосенсибілізатора з 2 до 6 мкг/мл різко зростала до 4,4-5,6 lg. Збільшення концентрації метиленового синього до 10 мкг/мл і вище призводило до зменшення інтенсивності інактивації. Максимальний ефект (-5,6 lg) спостерігався за концентрації 6 мкг/мл. Загибель клітин *Staphylococcus aureus* 48011 за концентрації фарбника до 4 мкг/мл практично не збільшувалась і становила 2,7-3,1 lg; з 6 до 40 мкг/мл вона трималася на рівні 3,9-4,9 lg. Максимальний бактерицидний ефект спостерігався за концентрації 10 мкг/мл (інактивація на 4,9 порядки).

Окрема серія експериментів була присвячена дослідженню впливу білкового сусубстрату на фотодинамічну активність метиленового синього. Внесення в суспензію клітин, що опромінювалися, сироватки крові суттєво зменшувало фотодинамічний ефект. Результати, наведені на рис.5, показують, що в присутності 10% сироватки інактивація клітин *Staphylococcus aureus* 48011 склала всього 0,74 порядки (тобто 22% від контролю); при 30% сироватки – 0,56 поряд-

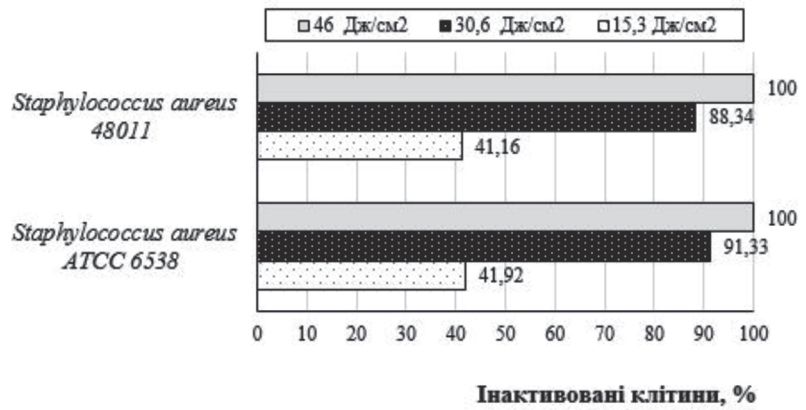


Рис.3 Вплив дози опромінення на рівень фотодинамічної інактивації *Staphylococcus aureus* ($\lambda = 660$ нм, метиленовий синій 10мкг/мл)

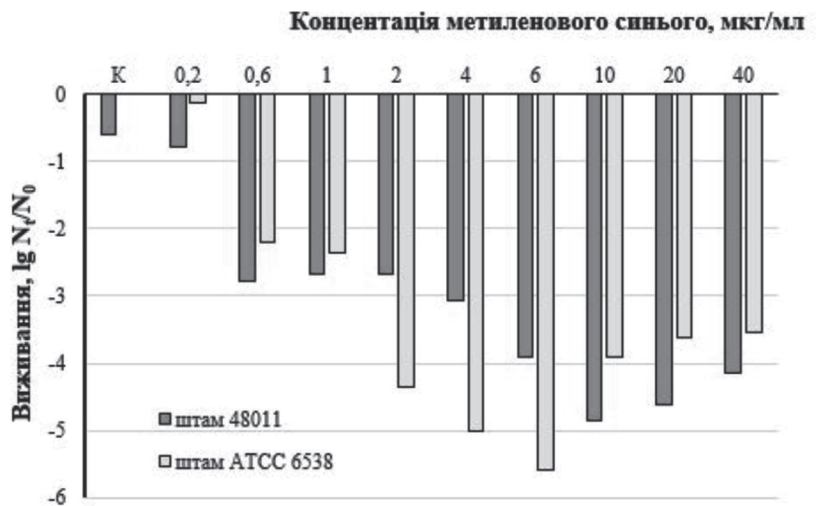


Рис. 4 Виживання різних штамів *Staphylococcus aureus* за фотоінактивації з метиленовим синім (режим опромінення: $\lambda = 660$ нм, доза 30,6 Дж/см²)

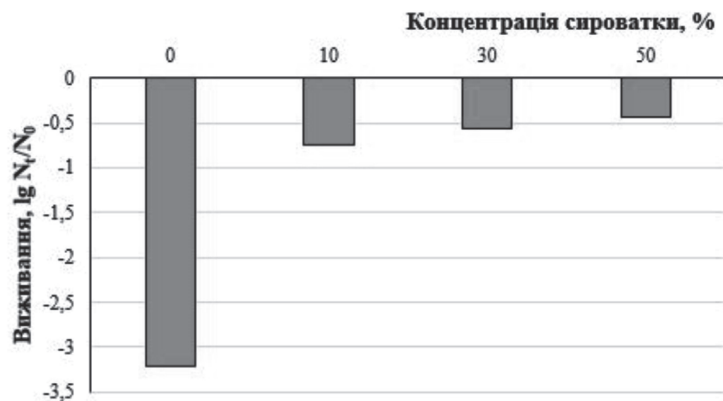


Рис. 5 Вплив сироватки крові на виживання клінічного штаму *Staphylococcus aureus* 48011 після фотодинамічної обробки ($\lambda = 660$ нм, доза 30,6 Дж/см²) з 10 мкг/мл метиленового синього

ки (17 % від контролю), а при 50% сироватки – 0,43 порядки (13% від контролю).

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що концентрація фарбника метиленового синього в діапазоні 10-40 мкг/мл суттєво не впливає на ефективність фотоінактивації музейного і клінічного штамів *Staphylococcus aureus*. Виживання клітин у цьому випадку залежить від дози опромінення, оптимальне значення якої становило 30,6 Дж/см². Динаміка ураження клітин випробуваних штамів *Staphylococcus aureus* була

схожа, а діапазон її складав 3,5-4,9 порядки. Відмічена певна різниця в інтенсивності інактивації досліджених штамів стафілокока в залежності від концентрації фарбника в межах 2-20 мкг/мл: максимальний ефект на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 спостерігався за концентрації 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на *Staphylococcus aureus* 48011 - за концентрації 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутність у середовищі сироватки крові призводила до помірному блокуванню антимікробного фотодинамічного ефекту.

Литература

1. Потапченко Н.Г. Сочетанное действие УФ-излучения ($\lambda = 254$ нм) и ионов меди и серебра на выживаемость *Escherichia coli* / Потапченко Н.Г., Савлук О.С., Илляшенко В.В. // Хим. и технол. воды. - 1992. – Т1. 14, №12. - С.935-940
2. Alves A. Charge effect on the photoinactivation of gram-negative and gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins / Alves A., Costa L., Carvalho C.M.B., et al., // BMC Microbiology. - 2009.- № 9, P. 70-83
3. Gamaleia N. Photodynamic activity of nanogold-doped Fotolon: free radicals versus singlet oxygen / Gamaleia N., Dolinsky G., Shishko E., et al. // Forum on Immunopathological diseases and therapeutics.-2011.- Vol.2, №3.-P.237-246
4. Gueorgieva T. Susceptibility of *S.aureus* to methylene blue haemoporphyrin, phtalocyanines photodynamic effects / Gueorgieva T., Dimitrov S., Dogandhiyska V., et al // Journal of IMAB.- 2010, Vol.16, №4.- P. 51-53
5. Grinholc M. Multiresistant strains are as susceptible to photodynamic inactivation as their naive counterparts: photoporphyrin IX-mediated photoinactivation reveals differences between methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* strains / Grinholc M., Rapacka-Zdonchuk A., Rybak B., et al // Photomed Laser Surg.- 2014.- Vol.32, № 3.- P. 121-129
6. Hamblin M. R. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? / Hamblin M. R., Hasan T. // Photochemical and Photobiological Sciences.- 2004.- Vol. 3, № 5, P 436–450
7. Jianfeng Wu Eradication of bacteria suspension and biofilm using methylene blue-loaded dynamic nanoplatfoms / Jianfeng Wu, Hao Xu, Wei Tang, et al // Antimicrobial agents and chemotherapy.- 2009.- Vol.53, №7.- P. 3042-3048
8. Kashef N. Photodynamic inactivation of drug-resistant bacteria isolated from diabetic foot ulcers / Kashef N., Esmaeli D.G., Siroosy M., et al // Iranian Journal Microbiology.- 2011.- Vol.3, № 1.- P.6-41
9. Tardivo J.P. Methylene blue in photodynamic therapy: from basic mechanisms to clinical applications / Tardivo J.P., Giglio A.D., de Oliveira C.S., et al // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.- 2005.- Vol.2. № 3- P.175-191
10. Tubby S. Inactivation of staphylococcal virulence factors using a light-activated antimicrobial agent / Tubby S., Wilson M., Nair S. P. // BMC Microbiology, 2009.- Vol. 9, article 211
11. Xiu-jun Fu Antimicrobial Photodynamic Therapy for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection / Xiu-jun Fu, Yong Fang, Min Yao // Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International.- 2013.- Vol. 9, Article ID 159157

ОПОСРЕДОВАННАЯ МЕТИЛЕНОВЫМ СИНИМ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ МУЗЕЙНОГО И КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

¹Радченко О.С., ¹Степура Л.Г., ¹Горбенко Е.И., ²Гамалея Н.Ф.

¹ННЦ “Институт биологии” Киевського національного університету імені Тараса Шевченка,
ул. Владимирская, 64/13, Киев, 01601, Украина,
тел./факс: +38(044)521-35-98, decanat_bf@univ.kiev.ua

²Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
имени Р.Е. Кавецкого НАН Украины, ул. Васильковская, 45, Киев, 03022, Украина,
тел.: 38(044)259-01-83, факс 38(044)258-16-56, nauka@onconet.kiev.ua

Фотодинамическую инактивацию музейного и клинического штаммов *Staphylococcus aureus* осуществляли при концентрации метиленового синего 6-40 мкг/мл и лазерном облучении при 660 нм, плотности мощности 25 мВт/см², в течение 10, 20 и 30 минут, дозы 15,3, 30,6 и 46 Дж/см², соответственно. Установлено, что изменение концентрации красителя в диапазоне 10-40 мкг/мл существенно не влияет на эффективность фотоинактивації. Выживание клеток зависит от дозы облучения, оптимальное значение которой составляло 30,6 Дж/см². Динамика поражения клеток

испытанных штаммов *Staphylococcus aureus* была сходной, а диапазон ее составлял 3,5-4,9 порядка. При концентрации красителя в пределах 2-20 мкг/мл отмечена некоторая разница в интенсивности инактивации исследованных штаммов: максимальный эффект на *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 наблюдался при 6 мкг/мл (-5,6 lg), а на *Staphylococcus aureus* 48011 - при 10 мкг/мл (-4,96 lg). Присутствие в среде сыворотки крови приводило к значительному блокированию антимикробного фотодинамического эффекта.

Ключевые слова: фотодинамическое действие, фотосенсибилизатор метиленовый синий, *Staphylococcus aureus*.

**METHYLENE BLUE-MEDIATED PHOTODYNAMIC INACTIVATION
OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS COLLECTION AND CLINICAL STRAINS**

Radchenko O., Stepura L., Gorbenko K., Gamaleia N.

¹ESC "Institute of Biology" Taras Shevchenko National University of Kyiv; 64/13, Volodymyrska Street, Kyiv, Ukraine, 01601, decanat_bf@univ.kiev.ua, Tel/Fax: +38044 521-35-98

²RE Kavetsky IEPOR NAS of Ukraine, 45, Vasylkivska street, Kyiv, Ukraine, 03022, nikolai.gamaleia@ukr.net
Tel 38044 258-16-58

Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* collection and clinical strains was studied using methylene blue (6-40 µg/ml) and laser irradiation ($\lambda=660$ nm, energy density of 25 mW/cm², exposure time 10, 20 and 30 min, doses 15,3; 30,6 and 46 J/cm², respectively). It was shown that the bactericidal effect was not dependent on the concentration of methylene blue in a range of 10-40 µg/ml but it was dependent on the light dose. The optimal dose for bacterial number reduction was 30.6 J/cm². The dynamics of cell damage was similar for examined strains and reached 3.5-4.9 lg. A certain difference in the damage intensity of the two strains at methylene blue range 2-20 µg/ml was found: the maximum effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 was observed with the photosensitizer concentration 6 µg/ml (5.6 lg reduction) and on *Staphylococcus aureus* 48011 - with 10 µg/ml (4,96 lg reduction). In the presence of blood serum the photodynamic effect was considerably reduced.

Keywords: Photodynamic effect, photosensitizer methylene blue, *Staphylococcus aureus*

РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА

**ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ
ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ**

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ

Заболотна Н.І., Павлов С.В.

**ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ТА ФАЗОВОЇ
МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЇ ТОМОГРАФІЇ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ
МЕРЕЖ ПЛАЗМИ КРОВІ**

Чепурна О.М., Штонь І.О., Павлов С.В., Тужанський С.Є., Утрерас А.,
Войцехович В.С., Попов В.Д., Каптановський Є.В., Холін В.В., Гамалія М.Ф.

**ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ШЛЯХОМ
ВИБІРКОВОГО ЛАЗЕРНОГО СКАНУВАННЯ ПУХЛИНИ,
ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ**

Ровира Р.У., Тужанський С.Є., Савенков С.Н., Павлов С.В.,
Чунихина Е.І., Коломиец І.С., Климов А.С.

**МЕТОД И ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ЛОКАЛЬНОЙ
ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПАТОЛОГИЙ АНИЗОТРОПНЫХ БИОТКАНЕЙ**

ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ОРІЄНТАЦІЙНОЇ ТА ФАЗОВОЇ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЇ ТОМОГРАФІЇ ПОЛІКРИСТАЛІЧНИХ МЕРЕЖ ПЛАЗМИ КРОВІ

Заболотна Н.І., Павлов С.В.

Вінницький національний технічний університет,
Україна, м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 95,
тел.: +38(0432)598-337, e-mail: Natalia.Zabolotna@gmail.com

Отримано експериментальні результати орієнтаційної та фазової Мюллер-матричної томографії полікристалічної мережі плазми крові здорової людини та людини, хворої на рак шлунку. Проведено аналіз статистичних, кореляційних та спектральних моментів, що описують вимірні орієнтаційні і фазові Мюллер-матричні томограми. Встановлено діагностичну спроможність методу Мюллер-матричної фазової томографії плазми крові людини і відсутність критеріїв диференціації плазми крові різних типів за методом орієнтаційної Мюллер-матричної томографії.

Ключові слова: орієнтаційна Мюллер-матрична томографія, фазова Мюллер-матрична томографія; лазерне зображення; полікристалічна мережа плазми крові; статистичні, кореляційні, фрактальні параметри.

Вступ

За останнє десятиріччя в біомедичній діагностиці набули широкого застосування оптичні методи формування пошарових зображень біологічних об'єктів і середовищ. Встановлено, що поле оптичного випромінювання, розсіяного біологічними шарами, об'єктивно є багатовимірним та багатопараметричним носієм інформації про їх структуру. Широкого розповсюдження набули методи та системи діагностики біологічних тканин (БТ) на основі вивчення полів розсіяного випромінювання засобами класичної фотометрії [8], Стокс-поляриметрії та Мюллер-матричної оптики [5, 11], доповнені комплексним статистичним, кореляційним і фрактальним аналізом отриманих лазерних зображень [1, 3, 7, 9]. На їх основі визначено прямі взаємозв'язки між набором статистичних моментів 1-го – 4-го порядків, функцій автокореляції, фрактальних розмірностей, які характеризують оптико-анізотропну структуру БТ, і поляризаційними параметрами (координатні розподіли азимутів і еліптичності поляризації, елементи матриці Мюллера) їх лазерних зображень [1, 3, 7, 9].

З іншого боку, в багатьох випадках більш доступним або єдино можливим є вивчення оптико-анізотропної структури не БТ, а біологічних рідин - таких як кров, сеча, жовч та ін. Тому важливим є подальший розвиток нових підходів до аналізу векторної структури полів лазерного випромінювання, перетвореного не тільки оптико-анізотропними шарами БТ, але й плівками біологічних рідин, зокрема полікристалічними мережами білків. У роботах [6, 10] підтверджувались діагностичні можливості статистичного і фрактального аналізу Мюллер-матричних і поляризаційних зображень плазми крові людини при серцевій недостатності (ішемічній хворобі серця), гострих запальних процесах (гострий коліт), онкологічних змінах молочної залози. Актуальним є визначення діагностичних можливостей інших методів лазерної поляриметрії плазми крові, зокрема, орієнтаційної і фазової Мюллер-матричної томографії [2], у межах статистичного, кореляційного та фрактального аналізу отриманих томограм.

Метою даної роботи є виявлення сценаріїв формування та комплексний аналіз структури орієнтаційної і фазової Мюллер-матричної томо-

грами (оММТ та фММТ) плівок плазми крові для визначення об'єктивних критеріїв діагностики фізіологічного стану людини.

Матеріали та методи

В якості об'єктів експериментального дослідження використовувалися мазки плазми крові (оптично тонка структура із коефіцієнтом ослаблення $\tau=0,07$) здорової людини та людини, хворої на рак шлунку. Мазок готували шляхом висушування при температурі 20-22°C протягом 24 годин, за які відбуваються повне випаровування води і кристалізація білкових (альбумін-глобулінових) структур.

Експериментальні дослідження проведено за допомогою багатофункціональної системи 2D – Мюллер-матричного картографування та аналізу лазерних зображень біологічних шарів, доповненої режимами оММТ і фММТ [10]. Опис принципу роботи системи та методика експериментального визначення координатних розподілів Мюллер-матричних орієнтаційних та фазових мап детально викладені у працях [10, 11] і у даній роботі авторами не приводяться.

В основу моделювання оптичних властивостей плазми крові покладено положення про анізотропію протеїнових мереж БТ [8, 9]:

- плівка плазми крові людини розглядається у вигляді двокомпонентної аморфно-кристалічної структури;

- кристалічна компонента сформована сукупністю (мережею) кристалів альбуміну і глобуліну;

- рідкі кристали амінокислот володіють властивостями оптично одноосних двопронезаломлюючих кристалів, які характеризуються матричним оператором Мюллера наступного вигляду

$$\{Z\}_j = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & z_{22} & z_{23} & z_{24} \\ 0 & z_{32} & z_{33} & z_{34} \\ 0 & z_{42} & z_{43} & z_{44} \end{pmatrix}, \quad (1)$$

де

$$z_{ik}(\rho, \delta) = \begin{cases} z_{22} = \cos^2 2\rho + \sin^2 2\rho \cos \delta; \\ z_{23;32} = \cos 2\rho \sin 2\rho (1 - \cos \delta); \\ z_{33} = \sin^2 2\rho + \cos^2 2\rho \cos \delta; \\ z_{34;43} = \pm \cos 2\rho \sin \delta; \\ z_{24;42} = \pm \sin 2\rho \sin \delta; \\ z_{44} = \cos \delta. \end{cases} \quad (2)$$

Тут ρ - напрямок оптичної осі кристалу амінокислоти;

$\delta = 2\pi/\lambda \Delta n d$ – фазовий зсув, який вноситься між ортогональними складовими амплітуди лазерної хвилі з довжиною λ , що проходить крізь білок з поперечним геометричним розміром d та показником двопронезаломлення Δn .

Таким чином, для описання оптичних властивостей шару плазми крові потрібно володіти інформацією про координатні розподіли двох груп параметрів ρ і δ , які характеризують кристалізовані амінокислоти альбуміна і глобуліна. Базуючись на даній моделі, розглянемо процес перетворення лазерного випромінювання моношаром парціальних кристалів амінокислот плазми крові.

Аналітично орієнтаційно-фазову структуру такого моношару або пласкої полікристалічної мережі можна представити у вигляді двох двовимірних масивів, названих відповідно орієнтаційною томограмою вигляду (3) та фазовою томограмою вигляду (4)

$$\rho(x, y) = \begin{pmatrix} \rho_{11} & \dots & \rho_{1y} \\ \vdots & \rho_{ik} & \vdots \\ \rho_{x1} & \dots & \rho_{xy} \end{pmatrix}; \quad (3)$$

$$\delta(x, y) = \begin{pmatrix} \delta_{11} & \dots & \delta_{1y} \\ \vdots & \delta_{ik} & \vdots \\ \delta_{x1} & \dots & \delta_{xy} \end{pmatrix}. \quad (4)$$

Алгоритм визначення напрямку оптичної осі одноосного двопронезаломлюючого кристалу, описаний в [10], дозволяє провести розрахунок Мюллер-матричних орієнтаційних томограм моношару плазми крові за формулою

$$\rho(jk) = 0,5 \arctg \left[\frac{z_{34;43}(jk)}{z_{24;42}(jk)} \right]. \quad (5)$$

Мюллер-матричні фазові томограми двопронезаломлюючої мережі моношару плазми крові можна отримати за експериментально виміряними Мюллер-матричними «фазовими» мапами $z_{44}(m \times n)$ [10]:

$$\delta(jk) = 0,5 \arccos [z_{44}(ik)]. \quad (6)$$

Кількісно розподіли орієнтаційних і фазових томограм оцінювалися за відомою методикою [4]. Як приклад, приведемо її для орієнтаційної томограми. Двовимірний масив $\rho(m \times n)$ сканувався з кроком $1pix$ в горизонтальному напрямку $1pix; 2pix; \dots n pix$. Для кожного кроку ρ підраховувалася кількість $N_{k=1 \div n}$ значень у межах відповідного горизонтального стовпчика $1pix; 2pix; \dots n pix$. У результаті для кожної орієнтаційної томограми $\rho^*(m \times n) = const$ одержувалася одномірна координатна залежність кількості значень відповідної орієнтації оптичних осей полікристалічної мережі $N^{(\rho)}(x = 1 \div n) \equiv N(x)$.

Далі проводилася кількісна оцінка розподілів $N(x)$ на основі визначення набору їх статистичних моментів 1-го – 4-го порядків [7, 8, 9, 10, 11]:

$$M_1 = \frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (|N(x)|)_j; M_2 = \sqrt{\frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (|N(x)|^2)_j};$$

$$M_3 = \frac{1}{M_2^3} \frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (|N(x)|^3)_j; M_4 = \frac{1}{M_2^4} \frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (|N(x)|^4)_j, \quad (8)$$

де R - кількість елементів дискретизації.

Для кількісної характеристики автокореляцій-

них залежностей $K(N)$ нами введено кореляційні моменти 2-го та 4-ого порядку, які характеризують півширину і ступінь «гостроти» функції автокореляції [7, 8, 9, 10]:

$$Q_2 = \sqrt{\frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (K^2_N(\Delta x))_j}; \quad (9)$$

$$Q_4 = \frac{1}{Q_2^4} \frac{1}{R} \sum_{j=1}^R (K^4_N(\Delta x))_j. \quad (10)$$

Фрактальний аналіз розподілів $N(x)$ полягає у такій послідовності дій [7, 8, 9, 10]:

- розраховувалися автокореляційні функції $K_N(\Delta x)$ і знаходилися відповідні спектри потужності $PSD(N)$ розподілів $N(x)$;

- обчислювалися log-log залежності спектрів потужності $\log PSD(N(x)) - \log(\nu)$ розподілів випадкових величин $N(x)$;

- за співвідношеннями (6) визначався набір статистичних спектральних моментів $W_{k=1,2,3,4}$, які характеризують log-log залежності спектрів потужності $\log PSD(N(x)) - \log(\nu)$.

Результати та їх обговорення

На серії рис. 1 – рис. 3 приведені орієнтаційні

Таблиця 1

Статистичні M_i , кореляційні Q_i і спектральні W_i моменти 1-го – 4-го порядків орієнтаційних томограм мережі кристалів амінокислот плазми крові

$R_{i=1,2,3,4}$	$\rho = 0$		$\rho = +0,25\pi$		$\rho = -0,25\pi$	
	Норма	Рак	Норма	Рак	Норма	Рак
M_1	0,43	0,36	0,29	0,21	0,25	0,23
M_2	0,21	0,18	0,23	0,26	0,24	0,22
M_3	0,75	0,89	1,04	1,21	0,91	1,11
M_4	1,39	1,56	1,61	1,89	1,86	2,09
Q_2	0,25	0,24	0,14	0,22	0,24	0,26
Q_3	0,41	0,53	1,56	0,58	0,25	0,32
Q_4	0,86	1,11	3,32	0,83	0,13	0,18
J_1	0,69	0,64	0,56	0,59	0,58	0,62
J_2	0,17	0,21	0,28	0,24	0,27	0,31
J_3	0,09	0,11	0,71	0,59	0,51	0,45
J_4	0,14	0,18	0,53	0,68	0,42	0,39

томограми альбумін–глобулінових мереж (рис. 1), координатні ($m \times n$), кількісні ($N(x)$) автокореляційні ($K_k(\Delta x)$) і фрактальні ($W(Z_k)$) розподіли детермінованих напрямів оптичних осей парціальних кристалів оптико–анізотропної сітки $\rho(m \times n) = 0$ (рис. 2), $\rho(m \times n) = 0,25\pi$ (рис. 3) для плазми крові здорової і хворої на рак шлунка людини, а також сукупність їх статистичних $M_{i=1,2,3,4}$, кореляційних $Q_{2,3,4}$ і спектральних $J_{i=1,2,3,4}$ статистичних моментів (табл. 1).

З аналізу одержаних експериментальних даних впливає головний факт – наявність достатнього рівня азимутальної симетрії у координатних розподілах напрямів оптичних осей відповідних полікристалічних мереж у плазмі крові як здорової, так і хворої на рак шлунка людини.

Порівняльний аналіз сукупності розподілів кількості ($N(\rho = const)$) детермінованих напрямів парціальних кристалів незалежно від конкретного значення $\rho(m \times n) = const$ і фізіологічного стану виявив їх статистичну $M_i(\rho = const) \approx M_i^*(\rho = const)$, кореляційну $Q_i(\rho = const) \approx Q_i^*(\rho = const)$ і спектральну $J_i(\rho = const) \approx J_i^*(\rho = const)$ подібність.

Кількісно структуру серії орієнтаційних томограм оптико–анізотропної мережі плазми крові ілюструє сукупність статистичних, кореляційних і спектральних моментів, приведених у табл. 1 для трьох детермінованих напрямів $\rho = 0; +0,25\pi; -0,25\pi$. Виділені темним фоном комірки в табл. 1 відображають значення відповідних показників, які при станах «норма» та «рак» найбільш суттєво відрізняються між собою, що може бути використано в якості інформативної ознаки для диференціації полікристалічних мереж плазми крові різних типів.

Порівняльний аналіз одержаних експериментальних даних, опосередковано визначених шляхом оММТ шарів плазми крові, не виявив достатньої кількості інформативних ознак для диференціації полікристалічних мереж різних типів.

На рис. 4 приведена серія безпосередньо виміряних фазових Мюллер-матричних томограм $\delta(m \times n)$ полікристалічних мереж амінокислот плазми крові здорової та хворої на рак шлунка людини. Аналіз експериментальних даних про

фазові прояви двопронезаломлення полікристалічної мережі плазми крові здорової і хворої людини виявив різну топологічну і кількісну структуру розподілів фаз $\delta(m \times n)$.

На серії рис. 5–6 приведені безпосередньо виміряні фазові томограми полікристалічної двопронезаломлюючої мережі плазми крові здорової людини і хворої на рак шлунку: $\delta(m \times n) = 0$ (рис. 5, а); $\delta(m \times n) = 0,1\pi$ (рис. 6, а;) та статистичні, кореляційні і фрактальні залежності (фрагменти рисунків 5 та 6 б, в, г, відповідно), що їх характеризує (табл. 2).

З аналізу даних, приведених у табл. 2, видно, що метод фазового томографування двопронезаломлюючої структури полікристалічної мережі плазми крові дозволяє отримати значно більше інформативних ознак (виділені темним фоном комірки в табл. 2) для диференціації полікристалічних мереж плазми крові типів «норма» та «рак».

Виявлена діагностична ефективність статистичних $M_{i=1,2,3,4}$, кореляційних $Q_{i=2,3,4}$ і спектральних $J_{i=1,2,3,4}$ параметрів, які характеризують координатну, кореляційну і самоподібну структуру експериментально виміряних детермінованих розподілів фазових зсувів полікристалічної мережі плазми крові здорової і хворої на рак шлунка людини:

- відмінності між 2-м, 3-м і 4-м статистичними моментами координатних розподілів $\delta(m \times n) = 0,1\pi; 0,2\pi$ лежать у межах від 2 до 4 разів;
- величини 2-го, 3-го і 4-го кореляційних моментів відрізняються у 2,5-15 разів;
- відмінності між величинами 2-го, 3-го і 4-го спектральних моментів досягають 1,5-3 разів.

Таким чином, можна констатувати, що метод фММТ координатних розподілів двопронезаломлення полікристалічної мережі амінокислот оптично–тонких шарів плазми крові виявився ефективним для діагностування онкологічного стану внутрішніх органів людини.

Висновки

Експериментально досліджено методи орієнтаційної та фазової Мюллер-матричної томографії полікристалічних мереж плазми крові, реалізовані на багатофункціональній системі

Таблиця 2

Статистичні M_i , кореляційні Q_i і спектральні W_i моменти 1-го – 4-го порядків фазових томограм мережі кристалів амінокислот плазми крові

$R_{i=1;2;3;4}$	$\delta = 0$		$\delta = +0,1\pi$		$\delta = 0,2\pi$		
	Стан	Норма	Рак	Норма	Рак	Норма	Рак
M_1		0,45	0,43	0,09	0,21	0,05	0,16
M_2		0,3	0,28	0,11	0,18	0,09	0,18
M_3		0,51	0,58	1,47	0,68	3,14	0,86
M_4		0,61	0,72	2,03	0,85	4,77	1,18
Q_2		0,31	0,29	0,11	0,26	0,06	0,21
Q_3		0,09	0,1	1,17	0,31	2,81	0,53
Q_4		0,07	0,09	3,63	0,43	7,76	0,54
J_1		0,69	0,74	0,58	0,49	0,51	0,34
J_2		0,31	0,35	0,31	0,21	0,26	0,13
J_3		0,07	0,1	0,19	0,25	0,31	0,72
J_4		0,45	0,43	0,09	0,21	0,22	0,68

2D – Мюллер-матричної томографії, із формуванням та комплексним аналізом структури відповідних орієнтацій цих фазових томограм здорової людини та хворої на рак шлунку.

За методом оММФ шарів плазми крові не виявлено достатньої кількості об'єктивних критеріїв диференціації полікристалічних мереж різних типів.

Виявлена діагностична спроможність статистичних, кореляційних і спектральних параметрів, які характеризують координатну, кореляційну і

самоподібну структуру експериментально виміряних детермінованих розподілів фазових зсувів полікристалічної мережі плазми крові здорової і хворої на рак шлунка людини.

Метод фММТ томографії координатних розподілів двопронезаломлення полікристалічної мережі оптично тонких шарів плазми людини виявився ефективним для статистичної, кореляційної та фрактальної діагностики раку шлунка людини.

Література

1. Заболотна Н.І. Аналітичні основи поляризаційного картографування багатошарових двопронезаломлюючих полікристалічних мереж // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології.- 2011.- №2.- С.110-117.
2. Заболотна Н.І. Архітектура і алгоритми функціонування та аналізу даних двовимірних систем лазерної поляриметрії біологічних тканин // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології.- 2013.- №1.- С.54-65.
3. Заболотна Н.І. Діагностичні обмеження Мюллер-матричної томографії оптично товстих багатошарових тканин / Н.І.Заболотна, С.В.Костюк, О.В.Дроненко // Вимірювальна та обчислювальна техніка в технологічних процесах.- 2013.- №2.- С.140-146.
4. Заболотна Н.І. Система орієнтаційної Мюллер-матричної томографії полікристалічних мереж біологічних кристалів / Н.І.Заболотна, С.В.Павлов, В.В.Шолота, С.Є.Тужанський // Фотобіологія та фотомедицина.- 2011.- №2.- С.100-106.
5. Пішак В.П. Лазерна поляриметрична діагностика в біології та медицині / В.П.Пішак, О.Г.Ушенко, О.В.Ангельський та ін.; за ред. В.П.Пішака та О.Г.Ушенка.- Чернівці: Медакадемія, 2000.- 305 с.
6. Ушенко О.Г. Основи лазерної поляриметрії. Біологічні рідини / О.Г.Ушенко, Т.М.Бойчук, Н.І.Заболотна та ін.; за ред. О.Г.Ушенка.- Чернівці: Чернівецький національний університет, 2011.- 656 с.
7. Ушенко О.Г. Мюллер-матрична двовимірна томографія багатошарових полікристалічних мереж біологічних тканин і рідин / О.Г.Ушенко, Н.І.Заболотна // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології.- 2010.- №2.- С.156-162.

8. Ушенко А.Г. Поляризаційна структура біоспектрів і деполаризація лазерного випромінювання // Оптика і спектроскопія.– 2000.– Т.89, №4.– С.651-654.

9. Angelsky O.V. Statistical, correlation, and topological approaches in diagnostics of the structure and physiological state of birefringent biological tissues / O.V.Angelsky, A.G.Ushenko, Yu.A.Ushenko et al. // Handbook of Photonics for Biomedical Science; ed. Valery V. Tuchin.- USA: CRC Press, 2010.- P.21-67.

10. Ushenko Yu.A. Muller-matrix diagnostics of optical properties inherent to polycrystalline networks of human blood plasma / Yu.A.Ushenko, O.I.Olar, A.V.Dubolazov et al. // Semiconductor Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics.– 2011.– Vol.14, №1.– P.98-105.

11. Shuliang J. Two-dimensional depth-resolved Mueller matrix of biological tissue measured with double-beam polarization-sensitive optical coherence tomography / J.Shuliang, V.W.Lihong // Opt. Lett.– 2002.– Vol.27.– P.101-103.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОРИЕНТАЦИОННОЙ И ФАЗОВОЙ МЮЛЛЕР-МАТРИЧНОЙ ТОМОГРАФИИ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ СЕТЕЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Заболотная Н.И., Павлов С.В.

Винницкий национальный технический университет

Получены экспериментальные результаты ориентационной и фазовой Мюллер-матричной томографии поликристаллической сети плазмы крови здорового человека и человека, больного раком желудка. Проведен анализ статистических, корреляционных и спектральных моментов, описывающих измеренные ориентационные и фазовые Мюллер-матричные томограммы. Установлены диагностическая способность метода Мюллер-матричной фазовой томографии плазмы крови человека и отсутствие критериев дифференциации плазмы крови разных типов по методу ориентационной Мюллер-матричной томографии.

Ключевые слова: ориентационная Мюллер-матричная томография; фазовая Мюллер-матричная томография; лазерное изображение; поликристаллическая сеть плазмы крови; статистические, корреляционные, фрактальные параметры.

DIAGNOSTIC CAPABILITIES OF MUELLER-MATRIX ORIENTATIONAL AND PHASE TOMOGRAPHY OF BLOOD PLASMA POLYCRYSTALLINE NETWORKS

Zabolotna N.I., Pavlov S.V.

Vinnitsia National Technical University

Oriental and phase Mueller-matrix tomography results of blood plasma polycrystalline network of healthy human and human with stomach cancer were obtained. Analysis of statistical, correlation and spectra moments that describes measured Mueller-matrix orientational and phase tomograms were undertaken. Diagnostic ability of Mueller-matrix phase tomography method of human blood plasma and differentiation criterias absence of different types of blood plasma, according to orientational Mueller-matrix tomography, were determined.

Keywords: Mueller-matrix orientational tomography; Mueller-matrix phase tomography; laser image; blood plasma polycrystalline network; statistical, correlation and spectra parameters.

ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ШЛЯХОМ ВИБІРКОВОГО ЛАЗЕРНОГО СКАНУВАННЯ ПУХЛИНИ, ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ

¹Чепурна О.М., ²Штонь І.О., ³Павлов С.В., ³Тужанський С.Є., ⁴Утрерас А.,
⁵Войцехович В.С., ⁶Попов В.Д., ¹Каптановський Є.В., ¹Холін В.В., ²Гамалія М.Ф.

¹ПМВП «Фотоніка Плюс», м. Черкаси, вул. Одеська, 8
тел. (0472) 32-49-63, e-mail: info@fotonikaplus.com.ua

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р.Є.Кавецького НАН України, м. Київ, Україна

³Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна

⁴Escuela Politécnica Nacional, Кіто, Еквадор

⁵Інститут фізики НАН України, м. Київ, Україна;

⁶Державний науково-дослідний інститут фізичної культури і спорту, м. Київ, Україна

Здійснено порівняння загальноприйнятої методики проведення фотодинамічної терапії шляхом опромінення пухлини в неперервному режимі та розробленого авторами методу вибіркового лазерного сканування. Запропонований метод полягає в опроміненні пухлини променем малої потужності та малого поперечного перерізу, який переміщується по обраній зоні з визначеною затримкою у кожній точці, при чому сканування ділянок пухлини відбувається лише за умов виявлення в них флуоресценції у процесі опромінення. Проведеними експериментами продемонстровано перспективність розробленого варіанту фотодинамічної терапії із використанням скануючого лазерного пристрою для вибіркового флуоресцентно корегованого опромінення пухлини, який забезпечує пригнічення росту пухлин на рівні з традиційним методом, але при значно меншій дозі опромінення.

Ключові слова: фотодинамічна терапія, лазерне сканування, флуоресцентна діагностика.

Вступ

Однією з головних особливостей методу фотодинамічної терапії (ФДТ) є можливість поєднання діагностики та лікування онкологічних захворювань в межах однієї процедури [5, 6, 7]. Збудження молекули більшості фотосенсибілізаторів (ФС) світлом із довжиною хвилі близько 405 нм (смуга Соре) викликає її флуоресценцію в червоній області спектру, що, враховуючи тропність порфіринових ФС до пухлини, дає змогу визначити границі малігнізованої тканини та час, необхідний для максимального накопичення ФС в пухлині [10]. З іншого боку, енергія збудженого ФС в клітині може бути перенесена на молекули кисню з утворенням синглетного кисню чи передаватись органічним сполукам, призводячи до формування вільних радикалів [11, 15]. Продукція цих активних форм кисню є основою руйнування пухлинних клітин при ФДТ [14]. При терапії пухлин зазвичай використовують червоне лазерне світло, так як воно максимально проникає вглиб тканини і потрапляє в полосу погли-

нання ФС. Традиційний метод проведення ФДТ передбачає застосування неперервного лазерного опромінення пухлини протягом орієнтовно визначеного часу, що може призвести до неконтрольованого вигорання ФС та вичерпання молекулярного кисню, який також є необхідною складовою здійснення ФДТ [8, 9, 12].

Раніше нами був розроблений спосіб опромінення пухлини шляхом лазерного сканування, принцип якого полягає в покроковому переміщенні променя малої потужності та малого поперечного перерізу по обраній зоні з визначеною затримкою у кожній точці [2]. Після проходження всіх точок пухлини промінь повертається в початкову позицію, і відбувається повторне покрокове проходження зони. Експериментальна перевірка цієї розробки *in vivo* на моделі карциноми мишей показала, що за ефективністю гальмування пухлинного росту запропонований метод поступався звичайному неперервному методу опромінення лише на 20%, тоді як застосована доза опромінення була меншою в 400 разів [3]. До основних пе-

реваг використання методу лазерного сканування для фотодинамічної терапії можна віднести:

- зменшення дози опромінення без зменшення робочої щільності потужності;
- зниження необхідної вихідної потужності лазерного випромінювання;
- більш раціональне використання ФС і тканьового кисню, концентрація котрих за скануючого режиму встигає відновитись.

В запропонованому нами раніше варіанті ФДТ лазерний промінь сканує пухлину у вигляді певних геометричних фігур (наприклад, прямокутника) визначених розмірів, таким чином, щоб максимально зіставити площу сканування із площею вибраної пухлини. Метод не враховує нерівності границь пухлини і, при скануванні у вигляді прямокутника, лазерне випромінювання, що потрапляє поза пухлину, використовується неефективно. Такий варіант проведення ФДТ також не приймає до уваги перепади концентрації ФС у різних ділянках пухлини та в різні моменти опромінення.

У даній статті описано застосування вдосконаленої нами системи сканування пухлин, яка забезпечувала флуоресцентне визначення наявності ФС у тканині в ході проведення процедури опромінення.

Основна частина

Наявність в зоні опромінення ФС є обов'язковою умовою проведення ФДТ, тому аналіз рівня флуоресценції ФС у пухлинній тканині може бути використаний з метою підвищення ефективності процедури. Виходячи з цього, нами була розроблена на базі лазерного скануючого

пристрою лікувально-діагностична установка, здатна забезпечити вибіркове опромінення окремих ділянок пухлини із врахуванням рівня їх флуоресценції. В якості ФС у цих дослідженнях було обрано препарат «Фотолон», дозволений в Україні (реєстраційний № UA/11770/01/02 від 21.10.2011 до 21.10.2016, наказ № 685(1) від 21.10.2011), виробництва РУП «Белмедпрепарати», Республіка Білорусь. Цей ФС, виготовлений на основі хлорину еб, характеризується наявністю двох максимумів поглинання у видимій області спектра: 402 ± 4 нм та 660 ± 5 нм.

Опромінення пухлини методом вибіркового сканування, враховуючи спектральні характеристики обраного ФС, здійснюється основним лазерним випромінюванням із довжиною хвилі 660 нм. Промінь малої потужності та малого поперечного перерізу поточно сканує пухлину, захоплюючи тільки ділянки, де попередньо була виявлена флуоресценція. Для збудження флуоресценції ФС застосовується допоміжне розфокусоване лазерне випромінювання з довжиною хвилі 405 нм, потужністю 50 мВт. Для реєстрації флуоресценції використовується камера на базі ПЗЗ-матриці. Програмне забезпечення лікувально-діагностичної установки (обробка зображення, визначення зон опромінення та інше) реалізується у вигляді розробленого програмного пакету «ControLS», який інсталується на персональний комп'ютер і працює в операційному середовищі Windows. Макет створеної лікувально-діагностичної установки наведено на рис. 1.

Процедура проведення ФДТ методом лазерного сканування із використанням лікувально-діа-

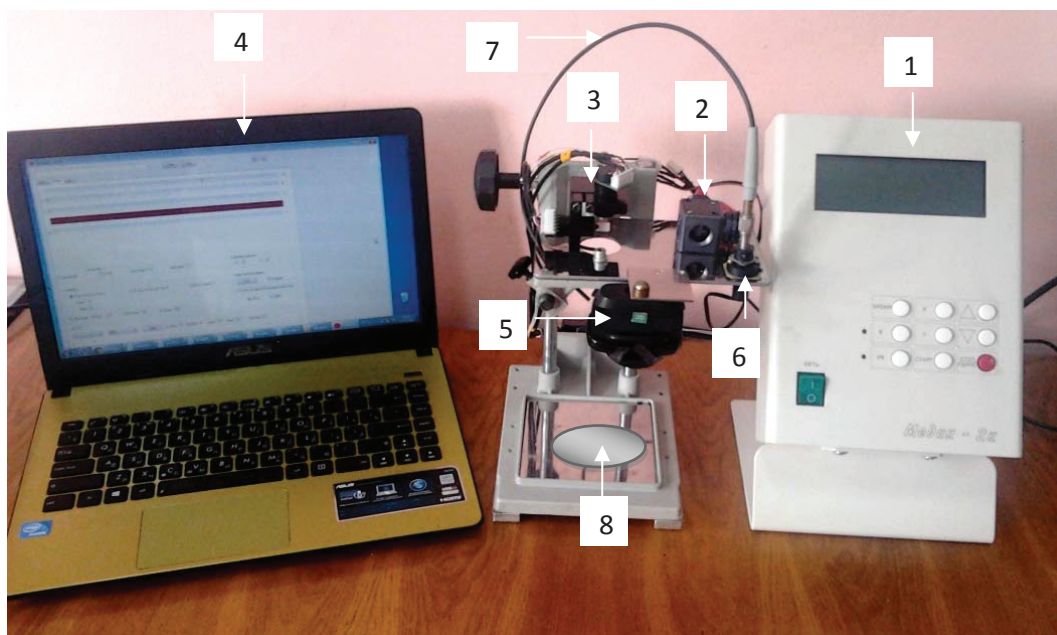


Рис. 1. Загальний вигляд діагностично-лікувальної установки

гностичної установки полягає в наступному. При ввімкненні блоку управління сканера (1), лазерне випромінювання від модуля (2) (довжина хвилі – 660 нм) потрапляє на дефлектор (3), який запрограмований окреслювати зону сканування у вигляді квадрату. За допомогою блоку управління вибираються необхідні параметри сканування: час опромінення (від 1 до 99 хв.), потужність лазерного випромінювання (від 10 до 50 мВт) та тривалість затримки лазера в одній точці (від 10 до 50 мс). Після запуску програми «ControLS.exe» на комп'ютері (4), камера (5) передає на монітор відеопотік в реальному режимі часу (без запису на ПК).

В ручному режимі оператор підлаштовує рамку програми під зону обстеження, яка включає пухлину. Реперними точками є чотири кути цієї зони. Після натиснення кнопки «Process» вмикається лазер, який генерує випромінювання з довжиною хвилі 405 нм потужністю 50 мВт (6) і через світловод (7) опромінює розфокусованим променем пухлину експериментальної тварини, що розміщена на предметному столику (8). Камера в цей час фотографує зону флуоресценції. Фотографія записується для обробки, та одночасно відправляється команда на вимкнення лазера. Додатково проводиться обробка зображення фільтрами, якщо вони введені оператором в налаштування програми. Після обробки програма формує команду для контролера з номерами точок, які необхідно сканувати, і відправляє її через СОМ-порт на блок управління основного лазера. Кнопкою «Start red» запускається основне лазерне випромінювання (660 нм), яке за допомогою дефлектора сканує пухлину по визначених програмою точках сфокусованим променем, що має діаметр близько 1 мм.

Через певний проміжок часу (2-5 хв) оператор зупиняє основний лазер та запускає визначення зони флуоресценції пухлини: ввімкнення допоміжного лазера 405 нм, фіксація зображення та визначення точок опромінення. Далі оператор знову запускає основний лазер для сканування пухлини в зоні флуоресценції. При цьому, загальний час ввімкнення діагностичного лазера, фотографування, вимкнення лазера, обробка зображення фільтрами та передача даних на контролер займає від 300 до 500 мс.

Для більш чіткого виділення зони флуоресценції пухлини та збільшення чутливості методу нами передбачена можливість програмної обробки фотографій з фільтрами «Special filter» та «Special filter 2» по градаціях RGB (0-255). Крім того, на ка-

меру встановлено оптичний фільтр для відсікання короткохвильового випромінювання та підвищення контрасту флуоресценції пухлини. Оброблені та оригінальні (без обробки програмою) зображення зберігаються на комп'ютер для подальшого використання. На рис. 2 показано приклад реєстрації флуоресценції пухлинної тканини за допомогою програми «ControLS» та визначення точок для подальшого опромінення лазером 660нм.

Нами було проведено серію експериментів для порівняння антибластомної ефективності фо-

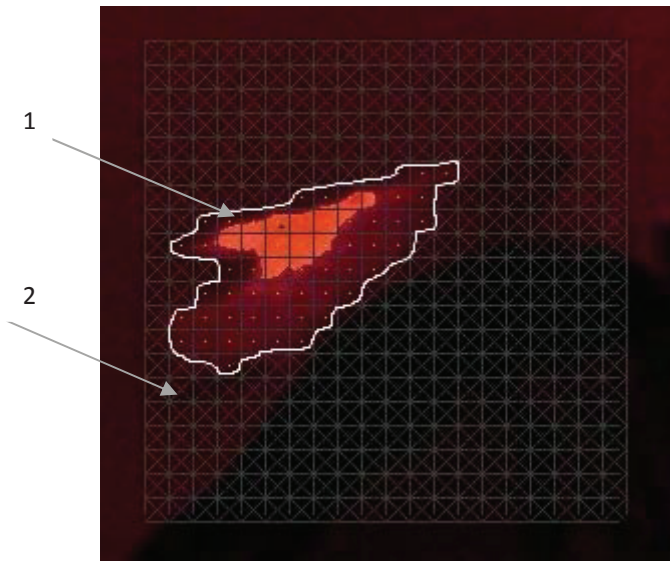


Рис. 2. Реєстрація флуоресценції пухлини, перещепленої у стопу задньої кінцівки миші, за допомогою програми «ControLS»
1 – виділена зона флуоресценції для подальшого сканування лазером; 2 – зона без флуоресценції.

тодинамічної терапії при опроміненні пухлини традиційним методом та за допомогою створеної лікувально-діагностичної установки методом лазерного сканування. При цьому для проведення ФДТ звичайним методом був використаний лазерний прилад «Ліка-хірург М» виробництва ПМВП «Фотоніка Плюс». В якості модельного об'єкту в експериментах використовували мишей лінії С57В1/6, вагою 18-22 г, з прищепленою у подушечку задньої кінцівки карциномою легень Льюїс. Діаметр пухлин до початку терапії коливався в межах 3,2-3,7 мм. За годину до лазерного опромінення мишам вводили внутрішньосудинно фотосенсибілізатор «Фотолон» в дозі 5 мг/кг. У двох порівнюваних групах тварин пухлини опромінювали у скануючому або безперервному режимах. Обидва режими були зрівняні за довжиною хвилі ($\lambda=660$ нм), щільністю потужності ($P_{\text{щ}}=45$ мВт/см²) та часом опромінення ($t_{\text{зат.}}=30$ хв). За скануючого режиму діаметр променя складав 1 мм, час затримки в кожній точці - 50 мсек, нові

зони флуоресценції визначались кожні 10 хв опромінення. Доза опромінення, отримана пухлиною за неперервного режиму, становила 90 Дж/см²; за скануючого режиму середня сумарна доза склала 2 Дж/см². У кожному окремому випадку застосування скануючого режиму доза опромінення залежала від загальної кількості точок сканування і коливалась від 0,7 до 3,2 Дж/см².

Як видно з рис. 3, обидва апробовані режими опромінення (скануючий та безперервний) призводили до певного, дуже подібного інгібування росту експериментальних пухлин. Вже на сьому добу після терапії розмір всіх опромінених пух-

та їх об'єм у групі тварин, якій проводили традиційну ФДТ статистично не відрізнялись від контрольної групи. Натомість, кількість метастазів та їх об'єм у мишей, пухлини котрих опромінювали у скануючому режимі виявились неоднорідними всередині групи (кількість метастазів та їх об'єм у частини мишей співпадали із такими у групі з неперервним режимом, а в деяких тварин ці значення були значно меншими). Так як доза, отримана тваринами в групі зі скануючим режимом опромінення, коливалась у широких межах, це може свідчити про вплив даного параметру на рівень метастазування при цьому варіанті про-

ведення терапії, імовірно за рахунок активації протипухлинного імунітету [13].

Висновки

Таким чином, створено лазерний скануючий пристрій, принцип роботи якого полягає в переміщенні лазерного променя малого поперечного перерізу по вибраній області із визначеною затримкою у кожній точці.

Пристрій удосконалено системою збудження та реєстрації флуоресценції фотосенсибілізатора в тканині, розроблено програму для обробки флуоресцентного зображення та його використання в якості матриці для програмно-керованого скану-

вання пухлини. Дана система дозволяє знизити потужність лазерного випромінювання, необхідного для проведення процедури, та оптимізувати витрати фотосенсибілізатора.

Експериментальна перевірка системи шляхом фотодинамічної терапії карциноми мишей показала, що за ефективністю гальмування пухлинного росту така терапія не поступалась традиційній з використанням безперервного лазерного опромінення, тоді як застосована доза опромінення була меншою в 45 разів.

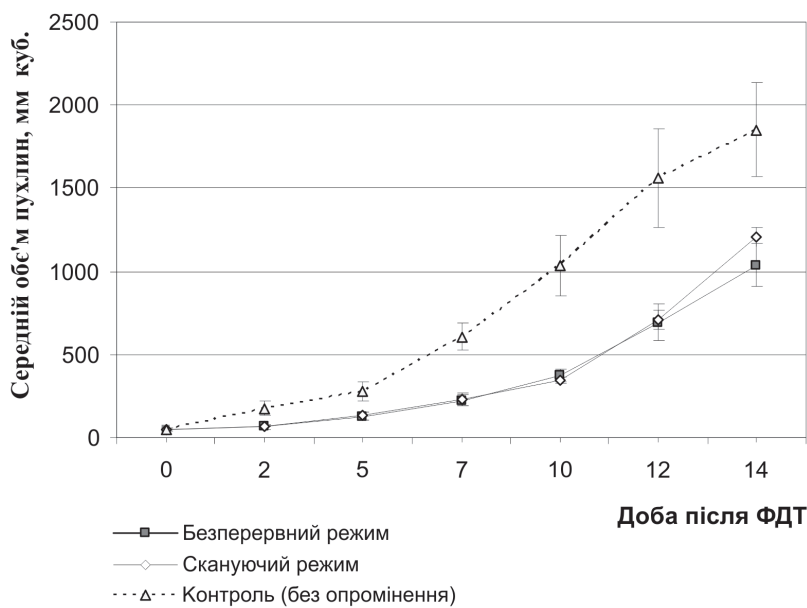


Рис. 3. Динаміка росту карциноми мишей після фотодинамічної терапії за різних режимів опромінення

лин починав статистично достовірно відрізнятись від контрольних [1, 4]. На 11-ту добу гальмування росту пухлин у групі, опроміненій в скануючому режимі, складало 54%, а для безперервного режиму цей показник дорівнював 55%. Отже, отримані результати практично не відрізнялись, хоча доза опромінення за скануючого режиму була в 45 разів меншою.

На 14-ту добу після проведення ФДТ було визначено рівень метастатичного ураження легень експериментальних тварин. Кількість метастазів

Література

1. Біомедичні оптико-електронні інформаційні системи і апарати. Ч.3 – Лазерні біомедичні системи / В.П.Кожем'яко, З.Ю.Готра, С.В.Павлов, З.М.Микитюк, О.З.Готра – Вінниця: ВДТУ, 2000.- 143 с.
2. Пат. 89226 Україна, МПК7 А61N5/06. Спосіб опромінення пухлини методом лазерного сканування в фотодинамічній терапії / Холін В.В, Попов В.Д., Войцехович В.С., Гамалія М.Ф., Чепурна О.М.; заявник та патентовласник Холін В.В. – № U 2013 13795; заявл. 27.11.2013; опубл. 10.04.2014, Бюл. № 7.
3. Чепурна О. М. Розробка і апробація нового варіанту методу фотодинамічної терапії пухлин із застосуванням лазерного скануючого пристрою / О. М. Чепурна, І. О. Штонь, В. С. Войцехович, В. В. Холін, Рональд У. Ровіра, О. С. Камінський, М. Ф. Гамалія // Оптико-електронні інформаційно-енергетичні технології. - 2014. - № 1. - С. 128-131.
4. Фізичні основи біомедичної оптики: монографія / [Павлов С. В., Кожем'яко В. П., Козловська Т. І.]. – Вінниця : ВНТУ, 2010. – 152 с. – ISBN 978-966-641-383-6.
5. Agostinis P. Photodynamic therapy of cancer: an update / P. Agostinis, K. Berg, K.A. Cengel, T.H. Foster, A.W. Girotti et al.// CA Cancer J Clin – 2011 - Vol. 61, №4 - P. 250–281.
6. Allison R.R. Oncologic photodynamic therapy: clinical strategies that modulate mechanisms of action / R.R. Allison, K. Moghissi // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2006. – Vol. 10, № 4. – P. 331-341.
7. Allison R.R. Photodynamic therapy: oncologic horizons / R.R. Allison // Future Oncol. – 2014 - Vol. 210, №1. – P.123 – 142.
8. Dolmans D.E. Photodynamic therapy for cancer/ D.E. Dolmans, D. Fukumura, R.K. Jain // Nat Rev Cancer. – 2003. - №3.- P.380 – 387.
9. Foster T.H. Analysis of photochemical oxygen consumption effects in photodynamic therapy / T.H.Foster, S.L.Gibson, L. Gao, R.Hilf // Proc. SPIE - 1992 - Vol.1645. – P.104 – 114.
10. Henderson W. Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms / W.Henderson, T.M.Bush, J.W.Snyder // Lasers Surg. Med. – 2006 - Vol.38 - P.489 – 493.
11. Krasnovskyj A.A. Photodynamic action and singlet oxygen. // Biophysics – 2004 - Vol. 49, №2. - P. 305 – 321.
12. Lisenko S. A. Method for estimating optimal spectral and energy parameters of laser irradiation in photodynamic therapy of biological tissue / S. A. Lisenko, M. M. Kugeiko // Quantum Electron – 2015 - Vol. 45, №4 - P.358 – 365.
13. Mroz P. Photodynamic Therapy of Tumors Can Lead to Development of Systemic Antigen-Specific Immune Response / A. Szokalska; M. X. Wu; M. R. Hamblin // Plos One – 2010 – Vol.5, №12 – e15194
14. Rkein A.M. Photodynamic therapy / A.M. Rkein, D.M. Ozog // Dermatol Clin. – 2014 - Vol. 32, №3 - P. 415 – 425.
15. Yoon I. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy / I.Yoon, J.Z. Li, Y.K.Shim // Clin Endosc. – 2013 – Vol.46, №1 – P. 7 – 23.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПУТЕМ ИЗБИРАТЕЛЬНОГО СКАНИРОВАНИЯ ОПУХОЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

¹Чепурна О.Н., ²Штонь И.А., ³Павлов С.В., ³Тужанский С.Е., ⁴Утрерас А., ⁵Войцехович В.С.,
⁶Попов В.Д., ¹Каптановский Е.В., ¹Холін В.В., ²Гамалія Н.Ф.

¹ЧМПП «Фотоника Плюс», Черкассы, Украина

²Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
имени Р.Е.Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

³Винницкий национальный технический университет, Винница, Украина

⁴Escuela Politécnica Nacional, Кито, Эквадор

⁵Институт физики НАН Украины, Киев, Украина

⁶Государственный научно-исследовательский институт физической культуры и спорта, Киев,
Украина

В работе сравнивается проведение фотодинамической терапии с использованием традиционного непрерывного облучения опухоли и применения разработанного авторами метода избирательного лазерного сканирования. Предложенный метод заключается в облучении опухоли лучом малой мощности и малого поперечного сечения, который перемещается по выбранной зоне с определенной задержкой в каждой точке, причем сканирование участков опухоли происходит лишь при условии наличия в них флуоресценции.

В результате проведенных экспериментов продемонстрирована перспективность разработанного варианта фотодинамической терапии с использованием сканирующего лазера для выборочного флуоресцентно-корректированного облучения опухоли, который обеспечивает подавление роста опухолей на уровне с традиционным методом, но при значительно меньшей дозе облучения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, лазерное сканирование, флуоресцентная диагностика

***IMPROVING THE EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC THERAPY BY SELECTIVE TUMOR
SCANNING, GUIDED BY TISSUE FLUORESCENCE***

¹*Chepurna O.M.,* ²*Shton I.O.,* ³*Pavlov S.V.,* ³*Tuzansky S.E.,* ⁴*Utreras A.,* ⁵*Voytsehovich V.S.,* ⁶*Popov V.D.,*
¹*Kaptanovsky E.V.,* ¹*Holin V.V.,* ²*Gamaleia N.F.*

¹*PSME «Fotonika Plus», Cherkassy*

²*Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv*

³*Vinnitsia National Technical University*

⁴*Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador*

⁵*Institute of Physics of NAS of Ukraine, Kyiv*

⁶*State Scientific Research Institute of Physical Culture and Sports, Kyiv, Ukraine*

In this work we compare the effectiveness of photodynamic therapy with the use of conventional continuous laser irradiation of tumors and newly developed selective laser-scanning method. The proposed method consists in tumor irradiation with a beam of low power and small cross section, which moves through the selected area with a certain delay at each point. The scanning is performed only in the tumor zones with detected fluorescence.

Comparison of the developed PDT version with the traditional method in experiments on photodynamic treatment of mice with lung carcinomas showed that the proposed method is capable to produce an equal tumor-inhibiting effect under much lower doses of laser irradiation.

Keywords: *photodynamic therapy, laser scanning, fluorescent diagnostics*

МЕТОД И ПОЛЯРИМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ЛОКАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПАТОЛОГИЙ АНИЗОТРОПНЫХ БИОТКАНЕЙ

¹Ровира Р.У., ¹Тужанский С.Е., ²Савенков С.Н., ¹Павлов С.В.,
²Чунихина Е.И., ²Коломиец И.С., Климов А.С.

¹Винницкий национальный технический университет,
г. Винница, Хмельницкое шоссе, 95
тел. +38(0432)59-84-50, e-mail: slavat@vntu.edu.ua

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

Рассмотрен метод локальной поляриметрической дифференциации патологических изменений анизотропных биотканей на основе анализа параметров анизотропии, которые получены в процессе обработки экспериментальных локальных матриц Мюллера исследуемого образца с учетом их разложения в базисе амплитудной и фазовой анизотропии с использованием аппарата нечетких множеств. Для реализации метода усовершенствована система адаптивной лазерной поляриметрии и ее программное обеспечение. Представлены результаты экспериментов, проведенных на образцах человеческой кожи с доброкачественным (папиллома) и злокачественным (меланома) образованиями.

Ключевые слова: лазерная поляриметрия, биоткань, матрица Мюллера, линейная анизотропия, фазовая анизотропия, деполяризация.

Введение

Одним из важных направлений в диагностике новообразований является разработка средств зондирования биотканей (БТ) поляризованным излучением видимого и ближнего ИК диапазонов спектра. Оценку параметров, характеризующих морфофункциональное состояние биоткани, можно осуществлять на основе анализа состояния поляризации рассеянного БТ лазерного излучения на одной или нескольких длинах волн, а также в некотором спектральном диапазоне (спектрально-поляризационные методы) [4, 7, 8].

Оптический анализ патологических структурных изменений БТ является сложной задачей, так как процессы линейного взаимодействия света с большинством БТ в области их прозрачности связаны со случайными неоднородностями, обуславливающими сильное рассеивание. При этом на клеточном уровне многие БТ являются упорядоченными структурами, которые способны проявлять анизотропные (двулучепреломление, оптическая активность, линейный дихроизм, циркулярный дихроизм) и деполяризующие свой-

ства [4]. Степень деполяризации излучения при прохождении таких БТ позволяет выделить оптический сигнал, формируемый преимущественно актами однократного рассеяния [1].

Биологические ткани имеют сложную морфологию, поэтому измерительная система для дифференциации патологических изменений БТ должна быть достаточно универсальной и оперативной, чтобы обеспечивать полный цикл измерений элементов матрицы рассеяния света до появления необратимых изменений в тканях *in vivo* или до проявления сенсорно-моторной реакции в образцах *in vitro*. Также система должна иметь возможность адаптации к различным типам биообъектов (даже за счет уменьшения быстродействия).

Для обнаружения новообразований и дегенеративно-дистрофических изменений различных БТ (кожная и мышечная ткань, роговица, ретина, хрусталик глаза и др.) разработано много современных подходов с использованием лазерной поляриметрии [1, 4, 7]. Современные поляриметрические устройства (ПУ) имеют высокие показатели точности измерений [7]. Однако, по-прежнему,

недостаточно изучены характеристики локальных поляризационных и анизотропных параметров БТ, которые могут проявлять максимальную чувствительность к изменению структуры и оптических свойств зондируемой среды.

Целью работы является экспериментальное исследование возможностей применения метода адаптивной локальной лазерной поляриметрии новообразований в биологических тканях (in vitro) на примере тонких образцов эпидермиса кожи. Метод заключается в измерении характеристик анизотропии образца, получаемых из локальных матриц Мюллера объекта с учетом доминирующего типа анизотропии с последующей дифференциацией патологических изменений в образцах БТ на основе принципа нечетких множеств.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования метода поляриметрической дифференциации патологических изменений в структурах анизотропных БТ проводились с помощью компьютерной системы адаптивной лазерной поляриметрии (САЛП) на кафедре квантовой радиофизики КНУ имени Тараса Шевченко. Структурная схема экспериментальной установки приведена на рис. 1.

Установка функционирует в режиме динамического Мюллер-поляриметра в режиме прямого рассеивания (рис. 1). Базовым источником излучения в системе является *He-Ne* лазер ($\lambda_1=0,6328$ мкм, $P_{\text{макс}}=30$ мВт, $d_{\text{пучка}}=2$ мм). Выходной пучок лазера, отраженный от поворотных зеркал, проходит через ослабитель когерентности ОК (вращающийся матовый диск, устраняющий спекл-структуры в плоскости регистрации). Далее пучок входит в канал I, проходит коллиматор К с пространственным фильтром (диафрагмой с $d_{\text{отв}}=50$ мкм) для очистки от рассеянного и дифрагированного света и поляризатор П. Модуляция поляризации света осуществляется ахроматической фазовой пластинкой ФП, которая изменяет азимут ориентации быстрой оси

при вращении вокруг оптической оси с помощью привода от двигателя Д1. Преобразованный лазерный пучок с эллиптической поляризацией рассеивается образцом БТ, который установлен в держателе на предметном столике с двухкоординатным микропозиционером (для перемещений в плоскости регистрации). Рассеянное излучение попадает в приемный канал II, который состоит из вращающейся фазовой пластинки ФП2, анализатора А и фотодиода ФД. Преобразованный выходной сигнал в динамическом режиме регистрируется и обрабатывается в БРОС (включает усилитель и 16-битный АЦП), подключен к персональному компьютеру со специализированным программным обеспечением.

Методика определения параметров анизотропии основана на линейном взаимодействии света с участком тонкого образца БТ в рамках Мюллер-матричного формализма [11].

Матрица Мюллера M связывает исходный вектор Стокса излучения, действующего на образец, с выходящим:

$$S^{out} = M \cdot S^{in} = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} & m_{14} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} & m_{24} \\ m_{31} & m_{32} & m_{33} & m_{34} \\ m_{41} & m_{42} & m_{43} & m_{44} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_1^{in} \\ S_2^{in} \\ S_3^{in} \\ S_4^{in} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S_1^{out} \\ S_2^{out} \\ S_3^{out} \\ S_4^{out} \end{bmatrix}, \quad (1)$$

где S^{in} , S^{out} – векторы Стокса до и после взаимодействия света с объектом, M – матрица Мюллера объекта (участка плоского тонкого образца БТ).

При нормальном падении световой волны на плоскость образца характеристики анизотропии и деполаризации объекта представляют с помощью матричного выражения [3]

$$S^{out} = M_A \cdot M_{ФП} \cdot M_{БТ} \cdot M_{ФП} \cdot M_{П} \cdot S^{in}, \quad (2)$$

где M_A , $M_{ФП}$ та $M_{П}$ – матрицы Мюллера элементов схемы поляриметра (анализатора, фазовой пластинки, поляризатора); $M_{БТ}$ – матрица Мюллера участка образца БТ.

Матрица Мюллера фазовой пластинки имеет вид [3]

$$M_{ФП} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos^2(2\alpha) + \sin^2(2\alpha)\cos\delta & \cos(2\alpha)\sin(2\alpha)(1 - \cos\delta) & -\sin(2\alpha)\sin\delta \\ 0 & \cos(2\alpha)\sin(2\alpha)(1 - \cos\delta) & \sin^2(2\alpha) + \cos^2(2\alpha)\cos\delta & \cos(2\alpha)\sin\delta \\ 0 & \sin(2\alpha)\sin\delta & -\cos(2\alpha)\sin\delta & \cos\delta \end{bmatrix}, \quad (3)$$

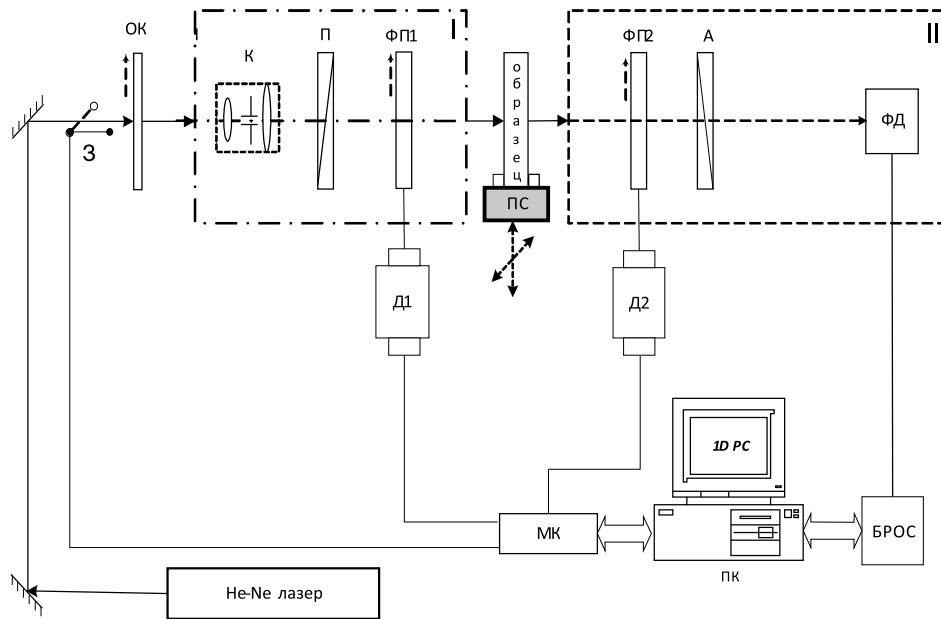


Рис. 1. Структурная схема САЛП: З – затвор; ПК – разрушитель когерентности; К – коллиматор; П – поляризатор; А – анализатор; ФП1, ФП2 – фазовые пластинки; Д1, Д2 – электродвигатели; ПС – предметный столик; ПК – персональный компьютер; ФД – фотодетектор; МК – микроконтроллерный блок управления; БРОС – блок регистрации и обработки сигналов

где $\delta = \frac{2\pi}{\lambda}(n_o - n_e)d$ – фазовый сдвиг между обычным и необычным лучами; d – толщина образца БТ; α – азимут ориентации быстрой оси фазовой пластинки.

Матрицы Мюллера поляризатора (анализатора) имеют вид [3]

$$M_{II} = M_A = \begin{bmatrix} 1 & \cos(2\alpha) & \sin(2\alpha) & 0 \\ \cos(2\alpha) & \cos^2(2\alpha) & \cos(2\alpha)\sin(2\alpha) & 0 \\ \sin(2\alpha) & \cos(2\alpha)\sin(2\alpha) & \sin^2(2\alpha) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (4)$$

Тонкие срезы биотканей часто характеризуются фазовой анизотропией и отсутствием деполяризации [5], однако некоторым видам БТ свойственны смешанные механизмы фазовой и амплитудной анизотропий (двулучепреломления и дихроизма), одновременный комбинированный анализ которых классическими методами затруднен.

Предлагается универсальный метод, заключающийся в разложении экспериментальной матрицы Мюллера образца БТ в базисе амплитудной и фазовой анизотропии, который используется для анализа анизотропных свойств объектов небиологической природы (оптические элементы, кристаллы и др.) [3].

Последовательное действие излучения на каждый из четырех видов анизотропии для локального участка плоского тонкого образца БТ определяем произведением [3, 7]

$$M_B = M_{CP} \cdot M_{LP} \cdot M_{LA} \cdot M_{CA'} \quad (5)$$

где $M_{CP}, M_{LP}, M_{CA'}, M_{LA}$ – матрицы Мюллера кру-

говой фазовой, линейной фазовой, круговой амплитудной и линейной амплитудной анизотропии, соответственно.

Действительные формы матриц и уравнений для параметров, характеризующих такие виды анизотропии представлены далее [3]. Так, матрица Мюллера циркулярной фазовой анизотропии имеет вид:

$$M_{CP} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(2\phi) & \sin(2\phi) & 0 \\ 0 & -\sin(2\phi) & \cos(2\phi) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (6)$$

где ϕ – величина оптической активности (циркулярной фазовой анизотропии).

$$M_{LA} = \begin{bmatrix} 1+P & (1-P)\cos(2\theta) & (1-P)\sin(2\theta) & 0 \\ (1-P)\cos(2\theta) & \cos^2(2\theta)(1+P)+2\sin^2(2\theta)\sqrt{P} & \sin(2\theta)\cos(2\theta)(1-\sqrt{P})^2 & 0 \\ (1-P)\sin(2\theta) & \sin(2\theta)\cos(2\theta)(1-\sqrt{P})^2 & \sin^2(2\theta)(1+P)+2\cos^2(2\theta)\sqrt{P} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2\sqrt{P} \end{bmatrix}, \quad (7)$$

Матрица Мюллера M_{LP} линейной фазовой анизотропии описывает фазовую пластинку со сдвигом δ вида (3).

Матрица Мюллера линейной амплитудной анизотропии:

де $P = \frac{k_{\perp}}{k_{\parallel}}$ – параметр линейного дихроизма (отношение коэффициентов минимального k_{\perp} и максимального k_{\parallel} пропускания линейных компонентов вектора E), θ – азимут ориентации оси максимального пропускания.

Матрица Мюллера циркулярной амплитудной анизотропии объекта:

$$M_{CA} = \begin{bmatrix} 1+R^2 & 0 & 0 & 2R \\ 0 & 1-R^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1-R^2 & 0 \\ 2R & 0 & 0 & 1+R^2 \end{bmatrix}, \quad (8)$$

где $R = \frac{\tau_+ - \tau_-}{\tau_+ + \tau_-}$ – параметр циркулярного дихроизма (τ_+ , τ_- – коэффициенты пропускания для право- и левциркулярной компонент вектора E).

Выражения для расчета параметров анизотропии на основе элементов матрицы Мюллера объекта [9]:

$$\theta = 0,5 \arctan \left(\frac{m_{13}}{m_{12}} \right), \quad (9)$$

$$P = \frac{(m_{11} - m_{12} \cos(2\theta) - m_{13} \sin(2\theta))^2}{m_{11}^2 - (m_{12} \cos(2\theta) - m_{13} \sin(2\theta))^2}, \quad (10)$$

$$R = \frac{m'_{1\pm} \pm \sqrt{(m'_{11})^2 - (m'_{14})^2}}{m'_{14}}, \quad (11)$$

$$\alpha = 0,5 \arctan \left(\frac{m''_{42}}{m''_{43}} \right), \quad (12)$$

$$\delta = \arctan \left(\frac{m''_{42}}{-m''_{44} \sin(2\theta)} \right), \quad (13)$$

$$\varphi = \arctan \frac{1}{2} \left(\frac{m''_{34} m''_{42} - m''_{24} m''_{34}}{m''_{34} m''_{43} - m''_{24} m''_{34}} \right), \quad (14)$$

где m'_{ij} – элементы матрицы $M' = M_B \cdot (M_{LA})^{-1}$,

m''_{ij} – элементы матрицы $M'' = M_B \cdot (M_{CA})^{-1}$.

Для анализа анизотропных свойств БТ с целью их дальнейшей дифференциации по типу структурных изменений разработан программный модуль расчета параметров анизотропии и деполяризации, которые определяют из элементов измеренной матрицы Мюллера объекта с учетом классификации образца согласно схеме, представленной на рис. 2.

Таким образом, локальная матрица M_B БТ является функцией шести параметров $M_B = F(R, P, \theta, \delta, \alpha, \varphi)$, диапазоны физически реализуемых значений которых [7, 9]:

$$\begin{aligned} 0 &\leq \varphi \leq 2\pi, \\ 0 &\leq \delta \leq 2\pi, -\frac{\pi}{2} \leq \alpha \leq \frac{\pi}{2}, \\ 0 &\leq P \leq 1, -\frac{\pi}{2} \leq \theta \leq \frac{\pi}{2}, \\ -1 &\leq R \leq 1. \end{aligned} \quad (15)$$

Обработка матриц Мюллера осуществляется по методу Клауда на основе расчетов параметра энтропии (анизотропной разупорядоченности) объекта [10]. Анализ объектов со смешанными анизотропиями для ряда однородных объектов представлен в работах [9, 12].

В поляриметрической системе калибровка и управление оптическими элементами, измерение элементов вектора Стокса, расчет матриц Мюллера образца и соответствующих параметров, а также обработка, хранение и вывод результатов измерений на монитор ПК производится с помощью компьютерной программы *1D Polarimetric complex*.

В дополнение к основной программе АПС для реализации функции дифференциации состояний

биологических тканей по типам структурных изменений (наличия патологии) реализован дополнительный программный модуль на основе метода нечетких множеств, в основу которого заложены функции сохранения функций принадлежности, нечеткой обработки и отображения результата.

Общий принцип дифференциации анизотропных биотканей на основе метода нечетких множеств представлен на рис. 3.

Каждая степень изменений параметров анизотропии на рис. 4 подана в виде качественных термов: низкий (Н), ниже среднего (НС), средний (С), выше среднего (ВС), высокий (В) [6]. Для каждой из баз данных с целью формализации показателей экспертным медицинским персоналом на основе комплекса функциональных исследований определяются соответствующие функции принадлежности (ФП). При выраженном одном из типов анизотропии другие не используются. В зависимости от объекта дополнительно для классификации могут быть использованы энтропия (степень деполаризации).

Экспериментальные исследования проводились *in vitro* в лаборатории лазерной поляриметрии кафедры квантовой радиофизики КНУ имени Тараса Шевченко на тонких (20÷50 мкм) гистологических срезах эпидермиса человеческой кожи с образованиями типа папиллома и меланома (2-я стадия по Кларку). Срезы эпидермиса (24 шт.) фиксировались на предметном стекле толщиной 1,5 мм по методу заморозки с фиксацией в канадском бальзаме (по 4-5 идентичных срезов на одном стекле). Линейные размеры опу-

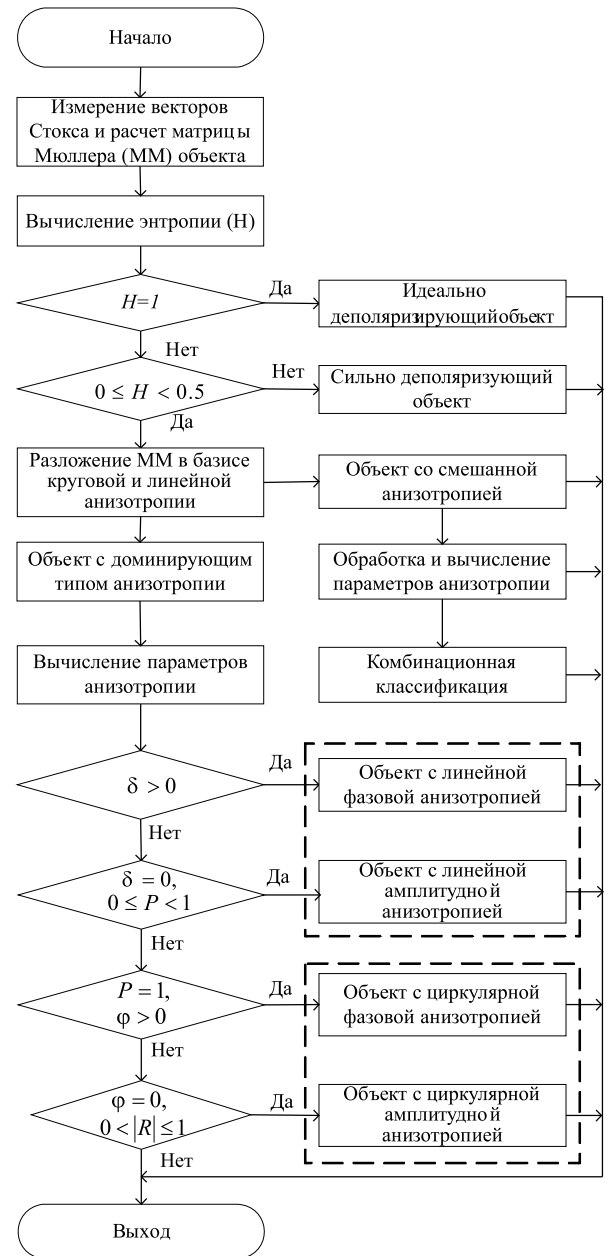


Рис. 2. Блок-схема алгоритма классификации БТ по анизотропным свойствам

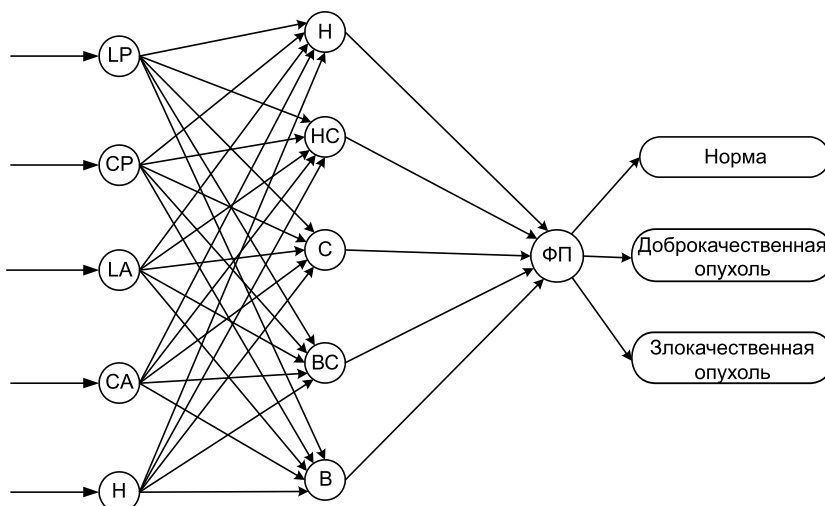


Рис. 3. Общий принцип дифференциации БТ: LP – линейная фазовая анизотропия (δ, α); LA – линейный дихроизм (P, θ); CA – циркулярный дихроизм (R); CP – циркулярная фазовая анизотропия (ϕ)

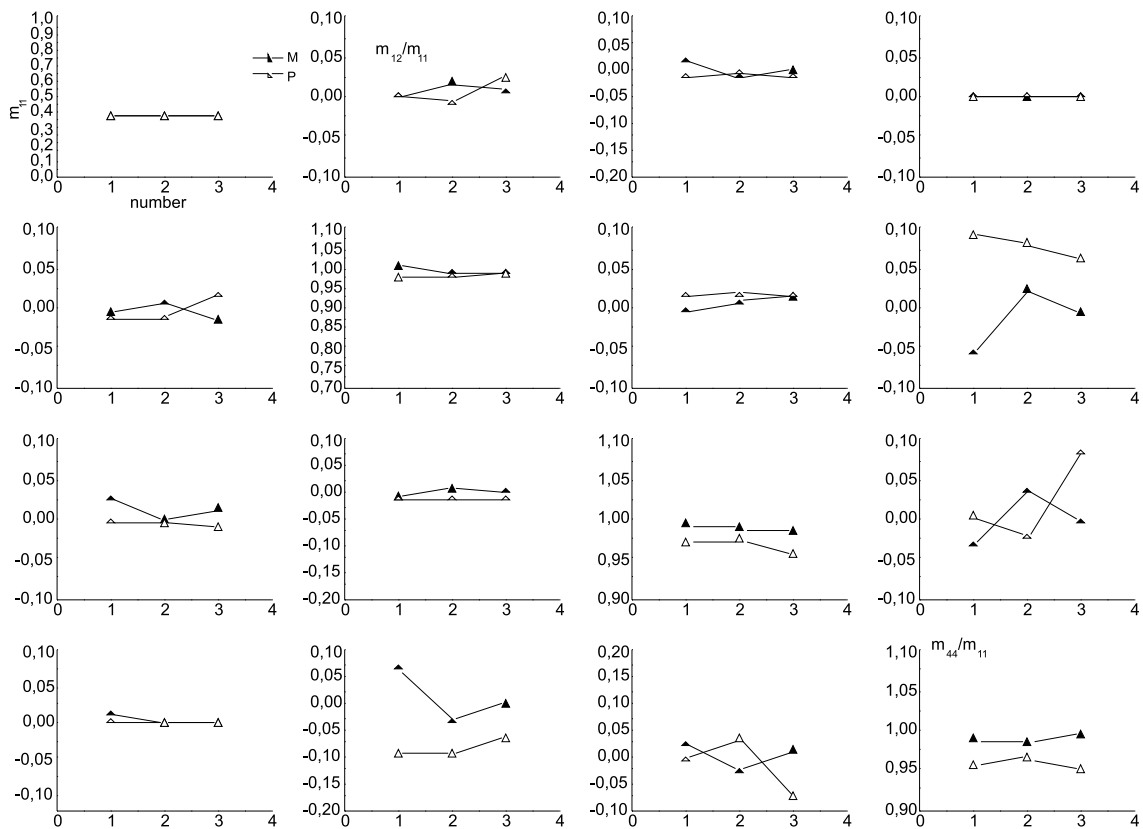


Рис. 4. Элементы экспериментальной матрицы Мюллера локальных участков эпидермиса

холей находились в пределах от 8 мм до 20 мм. Координатное перемещение в плоскости зондирования образцов осуществлялось с помощью микропозиционеров с шагом 50 мкм.

Результаты и их обсуждение

На рис. 4 представлены статистически усредненные по локальной области результаты измерений элементов матрицы Мюллера тонких (40 мкм) срезов эпидермиса кожи с меланомой (М) и папилломой (Р) для трех идентичных срезов (number 1-3)

в пределах области новообразований.

На рис. 5 показаны результаты рассчитанной энтропии H (по Клауду) образцов с меланомой (М) и папилломой (Р).

Из рис. 5 видно, что оба вида срезов проявляют незначительную деполаризацию (энтропию), величина которой одинаковая (в пределах погрешности) для папиллом и меланом. По этой причине для выбранной толщины образцов деполаризация не может быть характеристикой, позволяющей различить срезы между собой. Для более толстых срезов энтропия,

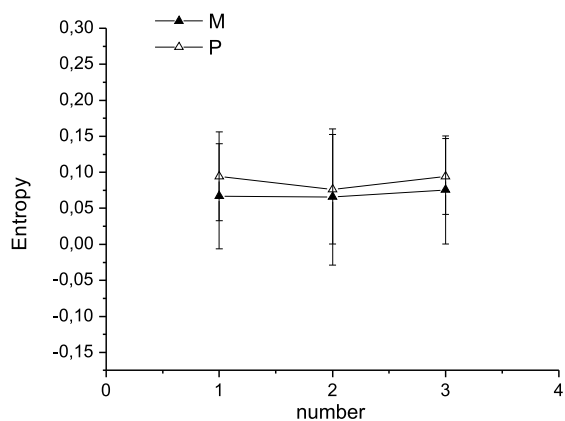


Рис. 5. Энтропия образцов

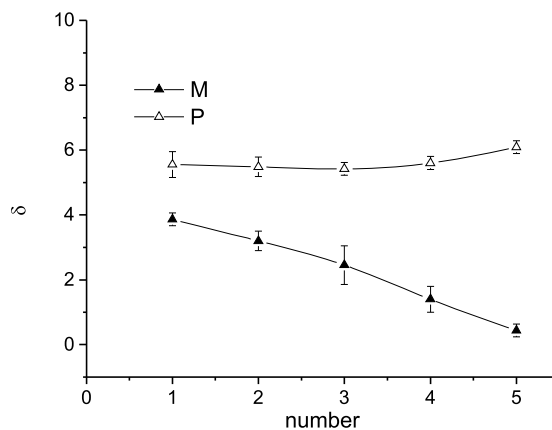


Рис. 7. Фазовый сдвиг для срезов эпидермиса толщиной 40 мкм

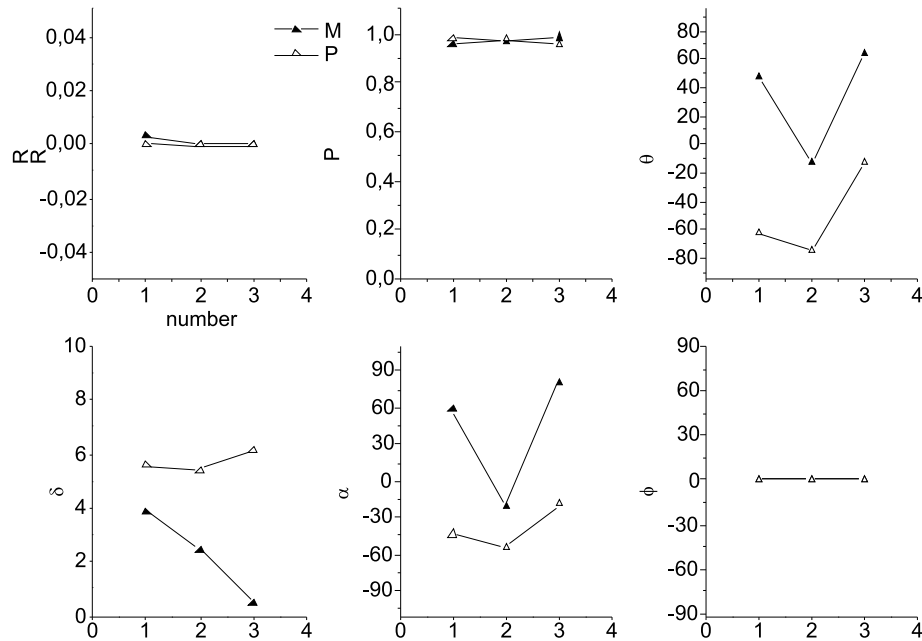


Рис. 6. Параметри анизотропії образців епідермиса 40 мкм (М – меланома, Р – папілома)

вероятно, может обнаружить более выраженные отличия для образцов с меланомой и папилломой.

Рассчитанные на основе предложенного метода статистически усредненные в пределах пораженной области локальные параметры анизотропии образцов, полученные после программной обработки по Клауду, представлены на рис. 6.

Из рис. 6 видно, что данные образцы относятся к объектам с линейной фазовой анизотропией, основным информативным параметром которых является фазовый сдвиг δ . Линейный и циркулярный дихроизм в образцах практически отсут-

ствуют. Более детальный анализ статистически усредненного по локальной области фазового сдвига на основе 5 идентичных срезов образцов представлен на рис. 7.

Таким образом, фазовый сдвиг находится в пределах $\delta=(5,42\div 6,09)^\circ$ для срезов с папилломой и $\delta=(0,43\div 3,86)^\circ$ для срезов с меланомой. Для дифференциации изменений используем нечеткий анализ на основе параметра δ в указанных пределах. Такой подход повысит чувствительность и специфичность метода диагностики меланомы кожи.

Литература

1. Зимняков Д. А. Дисперсионная зависимость оптической анизотропии и степени деполаризации фиброзных биотканей / Д. А. Зимняков, Г. В. Симоненко, В.В. Тучин // Оптический журнал. — 2010. — № 77(9). — С. 69—74.
2. Малишевская Н.П. Современные методы неинвазивной диагностики меланомы кожи Н.П. Малишевская, А.В. Соколова // Вестник дерматологии и венерологии. — 2014. — № 4. — С. 46—53.
3. Марьенко В. В. Представление произвольных матриц Мюллера в базисе матриц круговой и линейной анизотропии / В. В. Марьенко, С. Н. Савенков // Оптика и спектроскопия. — 1994. — Т. 76, №1. — С. 102—104.
4. Основи лазерної поляриметрії. Біологічні рідини / [Ушенко О.Г., Бойчук Т.М., Заболотна Н.І. та ін.]; під ред. О.Г. Ушенка, Т.М. Бойчука. — Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2011. — 656 с.
5. Поляризаційна біопсія в режимі малократно-го розсіяння вперед: Сравнительный анализ патологий кожи человека. / Д.А. Зимняков, М.В. Алонова, Е.М. Решетникова и др. // Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2013: материалы 17-й Междунар. молодежной науч. школы по оптике, лазерной физике и биофотонике. — Саратов : «Новый ветер», 2013. — С. 17-25.
6. Ротштейн А.П. Медицинская диагностика на нечеткой логике. Винница : Континент-ПРИМ, 1996. — 132с.
7. Системи лазерної відеополіариметрії для автоматизованого контролю параметрів неоднорідних біотканин : монографія / С. Є. Тужанський, Г. Л. Лисенко. — Вінниця : ВНТУ, 2010. — 159 с.
8. Тучин В. В. Исследование биотканей методами светорассеяния / В. В. Тучин // Успехи физических наук. — 1997. — Т. 167, № 5. — С. 517—539.
9. Фізичні основи поляриметрії високої інформативної здатності / Г.В. Бекетов, О.С. Клімов, І.Є. Матяш та ін.; під ред. Б.К. Сердеги. — К.: НТУУ «КПІ», 2013. — 252 с.
10. Cloude S. R. Concept of polarization entropy in optical scattering / S. R. Cloude, E. Pottier // Opt. Engineering. — 1995. — Vol. 34. — P. 1599—1610.

11. Mueller H. The foundations of optics / H. Mueller // J. Opt. Soc. — 1948. — No. 38. — P. 661—663.

N. Savenkov, V. V. Marienko // SPIE Proc. — 1995. — No. 2490. — P. 103—107.

12. Savenkov S. N. Classification and recognition method of objects based on their anisotropy properties / S.

МЕТОД І ПОЛЯРИМЕТРИЧНА СИСТЕМА ЛОКАЛЬНОЇ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ПАТОЛОГІЙ АНІЗОТРОПНИХ БІОТКАНИН

¹Ровіра Р.У., ¹Тужанський С.Є., ²Савенков С.М., ¹Павлов С.В.,

²Чуніхіна О.І., ²Коломієць І.С., Клімов А.С.

¹Вінницький національний технічний університет,

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Розглянуто метод локальної поляриметричної диференціації патологічних змін анізотропних біотканин на основі аналізу параметрів анізотропії, що їх отримують в процесі оброблення експериментальних локальних матриць Мюллера досліджуваного зразка з урахуванням їх розкладення в базисі амплітудної і фазової анізотропії із використанням апарату нечітких множин. Для реалізації методу удосконалено систему адаптивної лазерної поляриметрії та її програмне забезпечення. Наведено результати експериментів, проведених на зразках шкіри людини із доброякісними (напілома) і злоякісними (меланома) утвореннями.

Ключеві слова: лазерна поляриметрія, біотканина, матриця Мюллера, лінійна анізотропія, фазова анізотропія, деполаризація.

METHOD AND POLARIMETRIC SYSTEM FOR LOCAL DIFFERENTIATION OF PATHOLOGIES IN ANISOTROPIC BIOTISSUE

¹Rovira R.H., ¹Tuzhanskyi S.Y., ²Savenkov S.M., ¹Pavlov S.V., ²Chunihina O.I., ²Kolomiets I.S., Klimov A.S.

¹Vinnitsia National Technical University,

²Taras Shevchenko National University of Kyiv

The method for local polarimetric differentiation of pathological changes in anisotropic biotissue is reviewed on the basis of anisotropy parameters analysis, that were obtained in the process of experimental local Mueller matrices treatment of the investigated sample taking into account their decomposition in the base of amplitude and phase anisotropy by means of fuzzy sets. In the realization of the method the system of adaptive laser polarimetry and software were improved. The results of the experiments conducted on the sample of skin with of benign (papilloma) and malignant (melanoma) are presented.

Keywords: laser polarimetry, biological tissue, Mueller matrix, linear anisotropy, phase anisotropy, depolarization.

РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ

Посохов Н.Ф., Коробов А.М., Макаров В.Н., Воробьев В.В., Костюковская А.Е.
**ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО ОЧАГОВОГО
ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ГОЛОВНОГО МОЗГА
С ПОМОЩЬЮ ФОТОННОЙ МАТРИЦЫ КОРОБОВА-ПОСОХОВА
«БАРВА-ЦНС/ПХ» (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)**

Коробов А.М., Коробов В.А.
К ВОПРОСУ О ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ БАЗЕ ФОТОМЕДИЦИНЫ

УДК 616.831 – 006:615.831 – 092.9

ЭФФЕКТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО ОЧАГОВОГО ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ГОЛОВНОГО МОЗГА С ПОМОЩЬЮ ФОТОННОЙ МАТРИЦЫ КОРОБОВА-ПОСОХОВА «БАРВА-ЦНС/ПХ» (СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ)

Посохов Н.Ф., *Коробов А.М., Макаров В.Н., Воробьев В.В., **Костюковская А.Е.

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»,
ул. Академика Павлова, 46, г. Харьков, 61068 Украина,
тел.: +38-050-677-77-53, e-mail: valeo037@bk.ru;

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина,
пл. Свободы 4, г. Харьков, 61022 Украина, тел.: +38-067-731-14-31, e-mail: amkorobov@mail.ru;

**Харьковская медицинская академия последипломного образования,
ул. Корчагинцев, 58, г. Харьков, 61176 Украина,
тел. +38-057-711-35-56, e-mail: kostukovskaya@ukr.net

В сообщении описан редкий клинический случай успешного лечения многоочагового поражения головного мозга неуточненной этиологии с применением оригинальной технологии фототерапии.

Ключевые слова: метастатическая опухоль головного мозга, дисциркуляторная энцефалопатия, фототерапия.

Лечение больных с множественными очаговыми процессами головного мозга сосудистой, опухолевой или воспалительной этиологии является весьма сложной задачей. Это обусловлено, во-первых, сложностями дифференциальной диагностики, а во-вторых, - низкой эффективностью лечения с помощью современных медикаментозных и лучевых методик.

В связи с этим поиск новых способов лечения больных с мультифокальными патологическими процессами головного мозга весьма актуален.

Под нашим наблюдением находится пациентка Т., 72 лет, страдающая в течение многих лет ишемической болезнью сердца, атеросклеротическим кардиосклерозом, гипертонической болезнью III ст., хроническим гепатозом, мелкоочаговым фиброзом поджелудочной железы, солевым диатезом, диффузным пневмосклерозом. С июня 2012 г. у пациентки наблюдаются транзиторные ишемические атаки (ТИА) в вертебро-базиллярном бассейне, клинически проявляющиеся головными болями, головокружениями, тошнотой и рвотой, усиливающимися при перемене положения тела. В неврологическом статусе – симптоматика поражения ствола головного мозга и мозжечка: горизонтальный крупно-размашистый нистагм, ослабление кон-

вергенции, парез взора вверх, мышечная гипотония, атаксия при ходьбе и выполнении координационных проб.

В феврале 2014 г. после очередной ТИА была произведена спиральная компьютерная томогра-

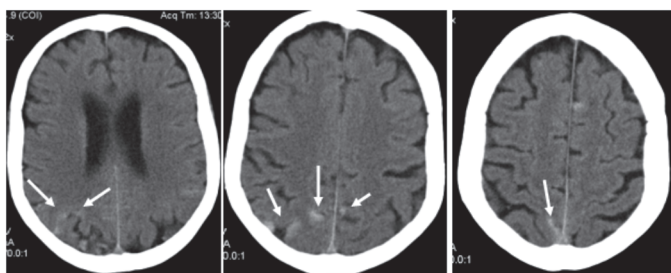


Рис. 1. Аксиальные СКТ-томограммы больной Т. (26.02.2014). Стрелками отмечены множественные локальные субархноидальные и кортикальные очаги, скорее всего, вторичного генеза; субатрофическая наружно-внутренняя гидроцефалия.

фия (СКТ) головного мозга. Выявлены множественные очаги в головном мозге диаметром до 10 мм, которые интерпретировались как метастатические, располагающиеся субкортикально, на фоне умеренной наружной и внутренней субатрофической гидроцефалии (рис. 1).

С учетом того, что при нейроофтальмологическом исследовании выявились признаки ликвор-

ной гипертензии в виде ступенчатости границ дисков зрительных нервов и загруженности вен сетчатой оболочки обоих глаз, нами диагностировано множественное метастатическое поражение головного мозга, хотя первичный очаг при комплексном общесоматическом исследовании выявить не удалось. Больной была рекомендована симптоматическая терапия по месту жительства.

Однако больная по собственной инициативе в течение 7 месяцев ежедневно проводила себе от 7 до 10 пятиминутных сеансов фототерапии с помощью полихромной фотонной матрицы Коробова – Посохова «Барва-ЦНС/ПХ» и фотонной матрицы Коробова А. – Коробова В. «Барва-ЛОР/ПХ» (рис. 2) на фоне антиоксидантной, дезагрегационной, противоатеросклеротической и витаминно-минеральной терапии.



Рис. 2. Полихромная фотонная матрица Коробова – Посохова «Барва-ЦНС/ПХ» и фотонная матрица Коробова А. – Коробова В. «Барва-ЛОР/ПХ».

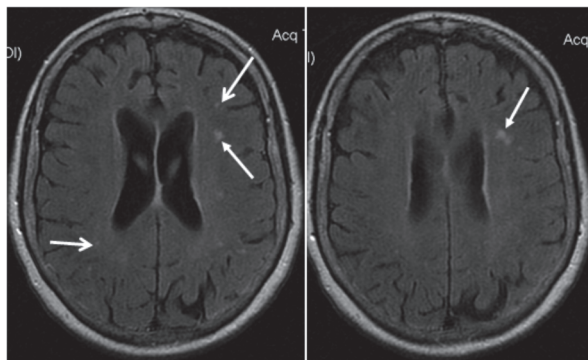


Рис. 3. Аксиальные МРТ-томограммы больной Т. в последовательности T2 FLAIR (16.04.2014). Множественные сосудистые очаги в белом веществе лобных и теменных долей; субатрофическая наружно-внутренняя гидроцефалия.

Фотонная матрица Коробова-Посохова «Барва-ЦНС/ПХ» конструктивно выполнена в виде «шапочки» из перфорированного пенополиуретана, поверхность которой условно разделена на пять зон (центральная, правая лобно-височная, левая лобно-височная, правая затылочная, левая затылочная). На внутренней поверхности каждой зоны «шапочки» установлены светодиоды, объединенные в группы по 5 единиц и излучающие в пяти спектральных диапазонах: инфракрасном (длина волны 940 нм), красном (630 нм), желтом (590 нм), зеленом (525 нм) и синем (470 нм).

Мощность излучения каждого светодиода – 2-5 мВт. В центральной зоне расположены 10 групп светодиодов, а в остальных зонах – по 9 групп. Таким образом, общее количество излучающих светодиодов в аппарате – 230 штук.

Фотонная матрица Коробова А. – Коробова В. «Барва-ЛОР/ПХ» конструктивно выполнена в виде эластичного «воротничка». На поверхности, обращенной к телу пациента, установлены светодиоды, объединенные в группы по 12 единиц. Каждая группа содержит по три светодиода, излучающих в синем, зеленом и желтом участках спектра, два – в красном и один – в инфракрасном. Общее количество излучающих светодиодов в аппарате – 120 штук.

С помощью аппарата «Барва-ЛОР/ПХ», установленного на шейный отдел пациента, осуществлялась фотомодификация крови, поступающей в головной мозг, что позволяло усиливать мозговой кровоток.

В течение этого времени общее состояние пациентки прогрессивно улучшалось. В неврологическом статусе отмечен значительный регресс общемозговой и очаговой неврологической симптоматики: головных болей, головокружений, тошноты, рвот, нистагма, пареза взора вверх. Зна-

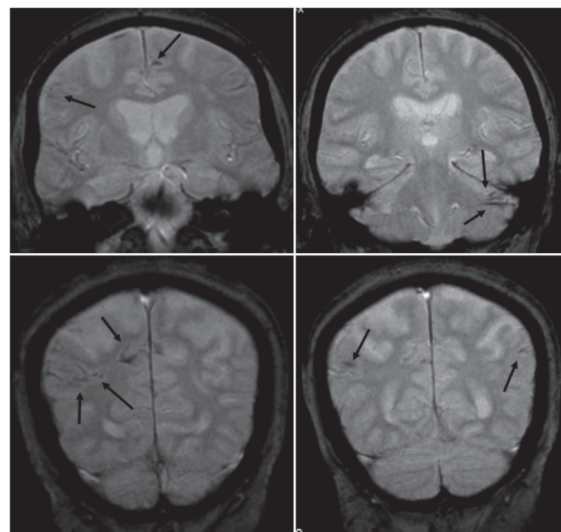


Рис. 4. Фронтальные МРТ-томограммы больной Т. в последовательности T2 GRE (16.04.2014) Гемосидероз оболочек лобных, теменных долей полушарий головного мозга и левой гемисферы мозжечка (стрелки); субатрофическая наружно-внутренняя гидроцефалия

чительно уменьшилась атаксия и мимопадание при пальце-носовой и коленно-пяточной пробах. Нормализовалась картина глазного дна.

Спустя 2 месяца после начала проведения сеансов фототерапии (в апреле 2014 г.) при магнито-резонансной томографии (МРТ) головного мозга в белом веществе лобных и теменных долей определялись множественные очаги размерами от 3 до 10 мм, гиперинтенсивные на T2 FLAIR. Кроме того, определялось снижение мр-сигнала на T2 GRE от лептоменингеальных оболочек правой теменной области и конвекситальных отделов левой гемисферы мозжечка; расширение боковых и третьего желудочков. Выявленные изменения стали трактоваться как очаги дисциркуляторного генеза (рис. 3, 4).

При контрольном неврологическом осмотре в октябре 2014 г. отмечено лишь наличие микросимптоматики, характерной для дисциркуляторной энцефалопатии. При СКТ и МРТ (1,5 Т) очаговых изменений в веществе головного мозга не выявлено (рис. 5). Вместе с тем, сохранилась наружно-внутренняя субатрофическая гидроцефалия, регистрировавшаяся при предыдущих исследованиях.

Таким образом, в динамике нейровизуализационные методики показали регресс очагов в белом веществе головного мозга.

Выводы

Представленное клиническое наблюдение свидетельствует о высокой эффективности и без-

опасности длительной низкоинтенсивной фототерапии у больных с множественными мелкоочаговыми поражениями головного мозга неясного (вторично опухолевого или дисциркуляторного) генеза.

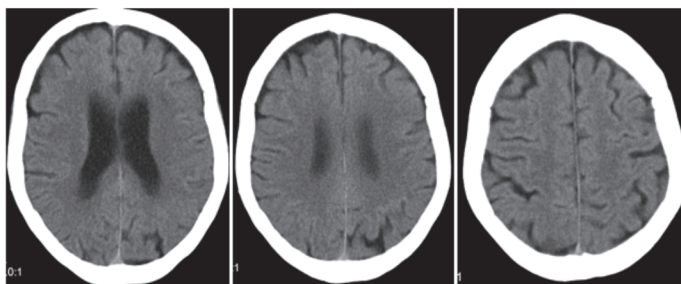


Рис. 5. Аксиальные СКТ-томограммы больной Т. (от 01.10.2014). Наружно-внутренняя субатрофическая гидроцефалия.

Данное наблюдение демонстративно свидетельствует о возможности «рассасывания» мелких (до 1 см) ишемических воспалительных и/или опухолевых очагов в головном мозге без образования кист, что в значительной степени меняет наши представления о регенераторных возможностях мозга человека.

Осмысление описанного наблюдения закономерно приводит к выводу о необходимости детальных фундаментальных исследований различных аспектов влияния света на регенерацию нервной ткани и изучения возможности включения методик фототерапии в комплекс терапевтических мероприятий при очаговых поражениях головного мозга.

ЕФЕКТИВНЕ ЛІКУВАННЯ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО ВОГНИЩЕВОГО ПАТОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА ДОПОМОГОЮ ФОТОННОЇ МАТРИЦІ КОРОВОБА-ПОСОХОВА «БАРВА-ЦНС/ПХ» (ВИПАДОК З ПРАКТИКИ)

*Посохов М.Ф., *Коробов А.М., Макаров В.М., Вороб'їєв В.В., **Костюковська А.Є.
ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», м. Харків, Україна;
* Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, м. Харків, Україна;
** Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна*

В статті описаний рідкісний клінічний випадок успішного лікування багатовогнищевго ураження головного мозку не уточненої етіології із застосуванням оригінальної технології фототерапії.

Ключові слова: метастатична пухлина головного мозку, дисциркуляторна енцефалопатія, фототерапія.

***EFFECTIVE TREATMENT OF MULTIFOCAL LOCAL DISEASE PROCESS OF THE BRAIN
WITH THE HELP OF PHOTONIC KOROBOV - POSOKHOV
«BARVA-CNS / PCH» MATRIX (CASE STUDY)***

*Posokhov M., *Korobov A., Makarov V., Vorobyov V., **Kostiukovska G.*

*State Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of
Ukraine, Kharkiv;*

** - Ministry of Education and Science of Ukraine V.N.Karazin Kharkiv National University;*

*** - Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv*

*The paper presents a rare case report of successful treatment of multifocal brain lesions unknown etiology
with original technology of phototherapy.*

Keywords: *metastatic brain tumor; dyscirculatory encephalopathy, phototherapy.*

УДК: 615.849.19:577.344

К ВОПРОСУ О ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ БАЗЕ ФОТОМЕДИЦИНЫ

Коробов А.М., Коробов В.А.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
НИ лаборатория квантовой биологии и квантовой медицины,
площадь Свободы, 6, Харьков, 61022, Украина,
тел.: +38(067)731-14-31, тел./факс: +38(057)707-51-91
e-mail: amkorobov@i.ua; amkorobov@mail.ru

В статье приводятся интуитивно-логические аргументы, экспериментально-эмпирические данные и фундаментальные законы точных наук, позволяющие считать фотомедицину дисциплиной, основанной на доказательствах, и кандидатом номер один медицины будущего.

Ключевые слова: фотомедицина, доказательная база, законы фотохимии, законы фотолюминесценции.

Введение

Интуитивно понятно, что роль света в поддержании жизни на Земле невозможно переоценить, поскольку эволюция всего живого происходила в поле солнечного излучения. Однако интуитивные аргументы не могут быть достаточными основаниями для использования света в медицине, основанной на доказательствах. Для этого, естественно, нужны и более весомые аргументы, методология получения которых изложена в новом направлении – доказательной медицине (Evidance-based Medicine).

В основе доказательной медицины лежит проверка эффективности и безопасности методов диагностики, профилактики и лечения в клинических исследованиях.

Опыт, накопленный человечеством за несколько тысячелетий использования солнечного света для профилактики и лечения наиболее распространенных заболеваний человека, безусловно, является неоспоримым аргументом для официального признания светотерапии (фототерапии) в качестве медицинской дисциплины. И не только при использовании солнечного света.

Технический прогресс постоянно модернизирует все сферы человеческой деятельности, в том числе и медицину.

Появление различных искусственных источников света непременно сопровождалось подъемом светотерапии на качественно новую ступень своего развития.

Первый подъем был обусловлен созданием удобных в эксплуатации искусственных источников света – ламп накаливания Лодыгина и Эдисона. Официальное признание терапии светом искусственных источников – присуждение Нобе-

левской премии датскому физиотерапевту Нильсу Финзену в 1903 году за лечение светом различных заболеваний, в том числе красной волчанки (туберкулеза кожи).

Разработанная в конце XIX века русским военным врачом А.Мининым синяя лампа была с благодарностью признана «широкими массами трудящихся» в качестве, пожалуй, первого искусственного «домашнего доктора», прослужившего верой и правдой практически 100 лет.

Второй подъем, можно сказать, мощный взлет светотерапии, был связан с внедрением в медицинскую практику уникальных искусственных источников света – лазеров.

Высокоинтенсивные лазеры произвели революцию в хирургии. Лазеры средней мощности «породили» принципиально новое направление в медицине – фотодинамическую терапию злокачественных опухолей и неопухолевых патологий. И, наконец, низкоинтенсивные лазеры стимулировали небывалый рост как клинических работ по светотерапии, так и бум фундаментальных исследований закономерностей и механизмов действия лазерного излучения на биологические объекты.

Вслед за лазерными источниками света появились мощные светодиоды, излучающие во всем видимом, а также ближних участках инфракрасного и ультрафиолетового диапазонов спектра.

Результаты лечения подавляющего большинства патологий с помощью или с участием низкоинтенсивных искусственных источников света опубликованы специалистами всего мира в огромном количестве тезисов докладов, статей, монографий [1, 2, 3, 4, 5].

Полученный фактический материал служит самым надежным прямым доказательством того, что

фототерапия с помощью излучения низкоинтенсивных искусственных источников света является медицинской дисциплиной, обладающей высокой эффективностью лечения и профилактики наиболее распространенных заболеваний человека и не имеющей практически никаких противопоказаний, а также негативных побочных эффектов.

В данном сообщении мы хотели бы обратить внимание исследователей и врачей, занимающихся фотомедициной, разработчиков аппаратов для фототерапии и их оппонентов на существование законов фотохимии и фотолюминесценции, которые описывают процессы взаимодействия света с веществом, в том числе, с биологическими объектами. Эти законы, на наш взгляд, являются важными научными аргументами в вопросе доказательности фотомедицины и максимально приближают ее к точным наукам.

Главная часть

На основании многовековых научных исследований и наблюдений сегодня можно постулировать приведенные ниже положения.

1. Реакции, протекающие в живом организме, в основном, фотохимические.

2. Поглощение света в живом организме происходит на молекулярном уровне.

3. Первой, неспецифической фазой практически каждого патологического процесса является нарушение микроциркуляции крови и лимфы.

Учитывая формат данной статьи («краткое сообщение»), мы не будем подробно раскрывать приведенные положения, хорошо известные специалистам, занимающимся фотобиологией и фотомедициной, и позволим себе напомнить несколько законов фотохимии и фотолюминесценции, которые помогут укрепить доказательную платформу фотомедицины.

Прежде всего, обратимся к первому закону фотохимии – закону Гротгуса-Дрейпера, согласно которому химическую реакцию в веществе может вызвать только поглощенная часть падающего на него света. А поглотиться может только то излучение, спектр которого попадает в полосу поглощения облучаемого вещества.

Впервые закон сформулировал на основании теоретических соображений в 1818 году немецкий ученый К.Гротгус. Это положение экспериментально обосновали Дж.Гершель (1842 г.) и Дж.Дрейпер (1843 г.).

По прошествии почти ста лет, в 1908 – 1912 годах, был сформулирован второй (основной) закон фотохимии – закон Штарка-Эйнштейна. В соответствии с этим законом каждая молекула, участвующая в химической реакции, идущей под действием света, поглощает только один фотон,

который вызывает реакцию. Иными словами, в фотохимическом превращении каждый поглощенный квант лучистой энергии делает способной к реакции одну отдельную молекулу этого вещества.

И, наконец, третий закон фотохимии – закон Бунзена-Роско, называемый также количественным или законом взаимозаменяемости (1855 г.). Согласно этому закону, величина фотохимического эффекта в веществе определяется количеством его освещения, т.е. произведением интенсивности света на продолжительность его воздействия. Из этого следует, что при изменении освещенности и продолжительности воздействия света фотохимический эффект останется неизменным, если их произведение не изменится.

С точки зрения фотомедицины величина фотохимического эффекта должна превышать терапевтический порог, что соответственно, накладывает граничные условия на минимальную мощность источника излучения.

Далее обратимся к двум законам фотолюминесценции, которые играют важную роль и которыми успешно пользуются в фотомедицине сегодня.

Первым из них является закон (или правило) Стокса, который определяет положение спектров поглощения и фотолюминесценции на оси длин волн. Закон Стокса утверждает, что спектр фотолюминесценции молекул смещен в длинноволновую сторону относительно спектра, вызвавшего эту фотолюминесценцию, т.е. относительно спектра поглощения люминесцирующих молекул и по форме соответствует зеркальному отражению спектра поглощения.

Это правило широко используется в фотодинамической терапии для визуализации, например, зоны онкопатологии.

Следующим законом фотолюминесценции, на который хотелось бы обратить внимание фототерапевтов, является закон Вавилова. С.И. Вавиловым было установлено, что квантовый выход фотолюминесценции постоянен при изменении в широких пределах длины волны возбуждающего света в стоксовой области и падает, если длина волны возбуждающего света лежит в антистоксовой (длинноволновой) области спектральной полосы поглощения.

Из закона Вавилова следует, что спектр фотолюминесценции вещества не зависит от длины волны возбуждающего света, попадающего в его полосу поглощения, что обусловлено быстрой колебательной релаксацией на каждом электронном уровне по сравнению с временем жизни молекул на возбужденном электронном уровне.

Важным следствием закона Вавилова для фотомедицины является то, что поглощающие молекулы с одинаковой вероятностью перейдут в возбужденное состояние как под действием монохроматического, так и под действием немоно-

хроматического излучения, если спектр возбуждающего излучения попадает в полосу поглощения возбуждаемой молекулы.

А если теперь вспомнить основной закон фотохимии (закон Штарка-Эйнштейна), согласно которому в фотохимическом превращении каждый поглощенный квант лучистой энергии делает способной к реакции только одну отдельную молекулу этого вещества, становится очевидной несостоятельность утверждения о большей эффективности воздействия лазерного (монохроматического) излучения на биологический объект по сравнению с нелазерным (немонохроматическим) излучением того же спектрального диапазона.

Этот вывод позволяет на научной основе «примирить» сторонников низкоинтенсивной ла-

зерной терапии и специалистов, использующих для лечения и профилактики заболеваний человека немонохроматическое (нелазерное) излучение.

Выводы

Доказательная база фотомедицины основывается на интуитивно-логических аргументах, экспериментально-эмпирических данных и фундаментальных законах точных наук.

Тот факт, что фотомедицина базируется на фундаментальных законах точных наук, не только укрепляет ее доказательную платформу, устраняет существующие внутренние противоречия в этой дисциплине, но и приближает саму фотомедицину к точным наукам, а следовательно, делает ее кандидатом номер один медицины будущего.

Литература

1. Антология светотерапии. Медицинские БИОП-ТРОН-технологии (теория, клиника, перспективы). Сборник научных трудов (гл. научный редактор – проф. С.А. Гуляр). Киев: Издательство Ин-та физиологии имени А.А. Богомольца НАН Украины (цикл «Высокие технологии долгодетия»), 2009. – 1024 с.
2. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия» Т.2 // Москва – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 896 с.
3. Москвин С.В., Буйлин В.А. Основы лазерной терапии // Москва – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006. – 256с.
4. Современные аспекты лазерной терапии / под редакцией В.Д. Попова // Черкассы: Вертикаль, издатель Кандыч С.Г., 2011 – 608с.
5. Jan Tuner, Lars Hode The new laser Therapy. Handbook // Prima Books AB. 2010 – 846 p.

ДО ПИТАННЯ ЩОДО ДОКАЗОВОЇ БАЗИ ФОТОМЕДИЦИНИ

Коробов А.М., Коробов В.А.

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

В статті наводяться інтуїтивно-логічні аргументи, експериментально-емпіричні дані та фундаментальні закони точних наук, що дозволяє враховувати фотомедицину дисципліною, яка заснована на доказах, та кандидатом номер один медицини майбутнього.

Ключові слова: фотомедицина, доказова база, закони фотохімії, закони фотолюмінесценції.

ABOUT EVIDENTIAL BASIS OF PHOTOMEDICINE

Korobov A.M., Korobov V.A.

V.N.Karazin Kharkiv National University

The paper contains intuitive and logical arguments, experimental and empirical findings, and basic laws of exact sciences. These confirm, that photomedicine is an evidence-based discipline, which will be the leader in the medicine of future.

Keywords: photomedicine, evidence-based, laws photochemistry, laws photoluminescence.

РЕДАКЦІЙНА СТАТТЯ

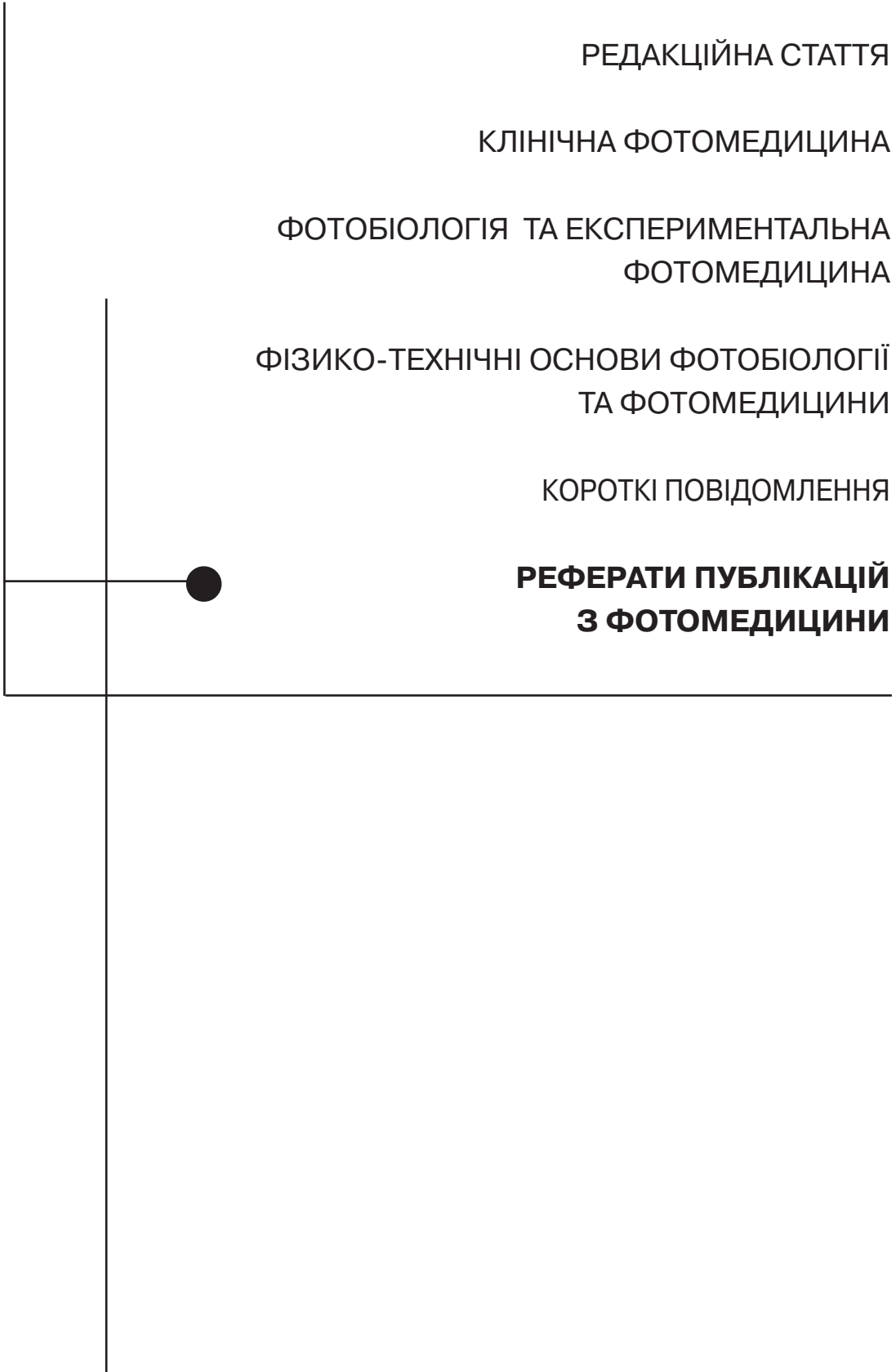
КЛІНІЧНА ФОТОМЕДИЦИНА

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
ФОТОМЕДИЦИНА

ФІЗИКО-ТЕХНІЧНІ ОСНОВИ ФОТОБІОЛОГІЇ
ТА ФОТОМЕДИЦИНИ

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

**РЕФЕРАТИ ПУБЛІКАЦІЙ
З ФОТОМЕДИЦИНИ**



ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ РЕЦИДИВОВ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

О.И.Трушина, Е.Г.Новикова, А.А.Костин, А.Т.Асратов, Ж.Б.Муминов, А.А.Трушин
ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена» Минздрава России, г. Москва; ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва
Гинекология.- 2014.- №4.- С.46-48

Цель работы – разработать методологические подходы к профилактике рецидивов рака шейки матки, ассоциированного с вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия (ФДТ) выполнена 40 ВПЧ-позитивным больным в возрасте 22-46 лет после хирургического лечения – высокой конусовидной ампутации шейки матки по поводу *cancer in situ* (18 женщин) и рака шейки матки 1A1ст. (22 женщины). Идентификация и дифференциация высокоонкогенных ВПЧ выполнены с помощью метода полимеразной цепной реакции. Интервал между оперативным лечением и ФДТ культи матки составлял 4–5 недель.

ФДТ выполнялась на 6–8-й день менструального цикла. Отечественный фотосенсибилизатор Аласенс (20% мазь) в дозе 0,1 мг/см² наносили аппликационно на культи шейки матки с захватом сводов и верхней трети влагалища за 6 часов до освечения диодным лазером «ЛФТ-630-01-Биоспек» (длина волны - 635 нм, плотность дозы энергии – 150 Дж/см², плотность мощности – 150–250 мВт/см²).

Результаты и обсуждение. Полная эрадикация ВПЧ после ФДТ культи шейки матки достигнута у 38 (95%) женщин, у 2 остальных – после 2-го сеанса ФДТ. Стойкий противовирусный эффект сохранился у 39 (97,5%) женщин. Эти данные о противовирусной эффективности ФДТ представляют большой интерес в свете доказанной этиологической роли ВПЧ в развитии рака шейки матки.

Выводы. ФДТ может быть рекомендована с противовирусной целью на втором этапе лечения после ножевой ампутации, лазерной, электро- и радиоволновой конусовидной эксцизии шейки матки, а также как альтернативный метод лечения цервикальной папилломавирусной инфекции.

МАЛОИНВАЗИВНЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ ЛАЗЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

И.А.Аполихина, Е.А.Горбунова, В.А.Одинокова
ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова», г. Москва; ВПО ПМГПУ им. И.М.Сеченова, г. Москва, Россия
Акушерство и гинекология.- 2014.- №11.- С.17-21.

Цель работы: анализ описанных в литературе клинических исследований воздействия лазерным излучением (ЛИ) на слизистую влагалища и вульвы. Наиболее частые урогинекологические проблемы – слабость мышц тазового дна, опущение и выпадение органов малого таза, недержание мочи (НМ), вульвовагинальная атрофия. Их возникновение часто связано с возрастными изменениями. Применение заместительной гормонотерапии положительно влияет на слизистую влагалища, однако обновления межклеточного матрикса при этом не происходит. Лазерные методы целенаправленно стимулируют синтез компонентов межклеточного матрикса и обеспечивают структурное ремоделирование тканей.

Материалы и методы. Для ремоделирования коллагена применяются углекислотный (длина волны излучения 10,6 мкм) и эрбиевый (2,94 мкм) лазеры. Термическое воздействие (микроабляционное, прогрев без абляции) импульсного ЛИ углекислотного лазера эффективно модулирует повреждения за счет увеличения секреции фактора роста фибробластов и регуляции синтеза коллагена, препятствующей чрезмерному фиброзу. Воздействие тепловой энергии неаблятивного ЛИ эрбиевого лазера на слизистую влагалища приводит к сокращению волокон коллагена, стимуляции неоколлагеногенеза.

Результаты и обсуждение. Изучена эффективность применения излучения импульсного углекислотного лазера у 46 женщин с признаками вульвовагинальной атрофии, ощущением жжения и сухости во влагалище, диспареунией. Вагинальное лазерное воздействие проводилось 3 раза с интервалом в 30 дней. Результаты лечения в основной группе были существенно выше, чем в контроле, где ЛИ не применялось.

ЛИ эрбиевого лазера показало высокую эффективность при лечении 39 женщин с НМ легкой и средней степени тяжести. У всех пациенток через 6 месяцев отмечено снижение симптомов НМ и повышение качества жизни. В другом исследовании эта методика дала хорошие результаты при лечении «синдрома широкого влагалища» у 21 женщины. К слизистой оболочке влагалища была подведена энергия ЛИ в 90 Дж, к преддверию и входу – 10 Дж. Половина женщин оценила процедуру как безболезненную, остальные отметили слабые болевые ощущения. Спустя 3 месяца после 2 процедур все больные отметили улучшение упругости стенок влагалища. Лечение цистоцеле у 28 женщин эрбиевым лазером с интервалом в 2 месяца существенно снизило объем остаточной мочи и степень пролапса.

Выводы: лазерные технологии - эффективный и безопасный метод малоинвазивного лечения, дополняющий заместительную гормонотерапию при урогинекологических заболеваниях.

ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМО- И ЛАЗЕРОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В СОЧЕТАНИИ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

А.В.Никитин, С.И.Маркс

ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н.Бурденко», Россия
Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - 2014. - №4. - С.3-6

Цель работы. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и артериальная гипертензия (АГ) часто отягощают друг друга, усиливая тканевую гипоксию, поэтому целесообразно включение в комплекс их лечения лазерной (ЛТ) и хромотерапии (ХТ), улучшающих микроциркуляцию и оксигенацию крови.

Материалы и методы. Проведено лечение 92 больных в возрасте 40-65 лет с обострением ХОБЛ средней степени тяжести в сочетании с АГ II ст. В контрольной группе (36 человек) применялась стандартная фармакотерапия. В основной группе она дополнялась курсом ЛТ и ХТ.

ЛТ проводилась аппаратом «Мустанг 2000» инфракрасным (длина волны 0,89 мкм) импульсным (частота импульсов 1500 Гц, мощность в импульсе 5 Вт) лазерным излучением. Воздействие осуществляли на кожу по 10 полям, соответствующим рецепторным зонам, афферентная импульсация которых способствует уменьшению отека слизистой бронхиального дерева, улучшению отхождения мокроты. Время экспозиции на 1 поле – 1 мин., плотность дозы не более 0,05 Дж/см².

ХТ осуществляли тем же аппаратом с подключением светодиода, излучающего на длине волны 0,53 мкм при мощности 21 мВт. Зеленым светом воздействовали на 6 рецепторных зон для улучшения микроциркуляции, достижения обезболивающего и гипотензивного эффектов. Время экспозиции на 1 поле – 1 мин., суммарное время воздействия – 6 мин. Курс светолечения - 10-12 ежедневных процедур.

Для оценки результатов лечения проводилось комплексное обследование больных на 1-2-й день пребывания в стационаре, через 10-14 дней, через 1 и 3 месяца.

Результаты и обсуждение. У пациентов основной группы уменьшение клинических проявлений ХОБЛ+АГ было более значимым, чем у больных контроля, получавших только традиционное лечение. В тесте с 6-минутной ходьбой в основной группе пройденная дистанция увеличилась в среднем на 39,2 м, в контрольной – на 21,8 м. Данные компьютерной спирометрии показали, что ЛТ и ХТ улучшают отдельные параметры бронхиальной проходимости. В основной группе снижение артериального давления было более значительным, что говорит о самостоятельном гипотензивном эффекте светолечения. Включение последнего в комплекс позволило добиться более длительной ремиссии (до 3 месяцев у 64% пациентов основной группы и у 48% - контрольной).

Выводы. Лечение инфракрасным и зеленым излучением в комплексной терапии больных ХОБЛ в сочетании с АГ может рекомендоваться для широкого применения в клинической практике.

ВЛИЯНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ГЕМОДИНАМИКУ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА

К.Ю.Демина, Е.Н.Гришилова, А.Н.Бражникова, С.Н.Гаража, Д.Д.Багчаева и др.

ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», г. Ставрополь, Россия
Фундаментальные исследования. – 2014. – №10–6. – С.1094-1097

Цель работы – изучить влияние фотодинамической терапии (ФДТ) на гемодинамику в тканях пародонта при лечении хронического генерализованного пародонтита (ГПД).

Материалы и методы. Проведено комплексное обследование и лечение 60 пациентов обоего пола в возрасте 19-49 лет с диагнозом ГПД легкой степени тяжести. ФДТ проводили в 3 сеанса облучения по 30 сек. в области каждого зуба с патологией пародонта, интервал между сеансами – 3 дня. Для ФДТ использовали краситель толуидиновый синий и светодиодный аппарат FotoSan (Дания) с длиной волны излучения 625–635 нм. Кроме того, применялась лекарственная терапия ГПД.

Состояние микроциркуляторного русла пародонта определялось до лечения, через 1, 6 и 12 мес. после него методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-М («Лазма», РФ). ЛДФ-граммы регистрировались в течение 60 сек. в 6 областях фронтальных участков десны и жевательных зубов верхней и нижней челюстей.

Результаты и обсуждение. До начала лечения показатели микроциркуляции у больных ГПД были снижены по сравнению со здоровой нормой на 7-25%, что в конечном счете усиливало застойные явления в веноулярном звене микроциркуляции пародонта. Через месяц после проведенного лечения с использованием ФДТ показатели микроциркуляции значительно улучшились. Хотя через полгода и год после ФДТ эти показатели постепенно снижались, они оставались у большинства больных выше, чем были до лечения, свидетельствуя об улучшении состояния микроциркуляторного русла пародонта.

Наилучшая динамика клинико-функциональных показателей у больных ГПД наблюдалась при включении в комплекс с ФДТ аппликационной сорбции и иммобилизованных препаратов фторида олова.

Выводы. ЛДФ позволяет проводить раннюю диагностику заболеваний пародонта и достоверно оценивать эффективность лечения. Лечение ГПД легкой степени тяжести методом ФДТ улучшает микроциркуляцию в тканях пародонта и повышает эффективность медикаментозных средств.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ ФРАКЦИОННОГО ФОТОТЕРМОЛИЗА В ОБЛАСТИ КОЖИ ШЕИ У ЖЕНЩИН РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Л.В.Кирсанова, Е.Р.Аравийская, Е.В.Соколовский, Г.Н.Соколов, А.И.Богатенков
Санкт-Петербургский институт красоты;
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П.Павлова», г. Санкт-Петербург, Россия
Вестник дерматологии и венерологии.- 2014.- №4.- С.94-100.

Цель работы: научное обоснование применения фракционного фототермолиза (ФФТ) для коррекции возрастных изменений кожи шеи у женщин в разных возрастных группах.

Материалы и методы. Сравниваются результаты ФФТ у 60 женщин двух возрастных групп (1-я – 40-49 лет, 2-я – 50-60 лет), которым лечение проводилось с помощью эрбиевого (длина волны излучения 1550 нм, энергия импульса 20 мДж) и тулиевого (1927 нм, 20 мДж) лазеров аппарата Fraxel Restore (США) под местной анестезией – последовательно по 4 прохода каждым лазером.

С помощью полифункционального диагностического аппарата Aramo TS (Южная Корея) исследовались увлажненность, гладкость кожи, ширина устьев сально-волосяного аппарата, выраженность пигментации, глубина и ширина морщин до лечения, через 1 неделю и 1 месяц после него.

Результаты и обсуждение. Показано, что процедура ФФТ в области кожи шеи безопасна и приводит в итоге к позитивному клиническому эффекту. Через 1 неделю после ФФТ у пациенток обеих групп наблюдалось ухудшение всех функциональных параметров кожи, причем у лиц старшей возрастной группы оно было выражено сильнее, чем в 1-й. Однако через 1 месяц эти показатели улучшаются выше исходного уровня, при этом позитивная динамика показателей гладкости кожи, ширины морщин во 2-й группе более выражена, чем в 1-й. Позитивное изменение увлажненности кожи, ширины устьев сально-волосяного аппарата, пигментации и глубины морщин было более значимо у пациенток младшей возрастной группы.

Выводы. Выявленные различия в динамике показателей состояния кожи в разных возрастных группах следует учитывать при планировании эстетических результатов процедуры ФФТ.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОБСТРУКЦИИ ТРАХЕИ У ВОЗРАСТНОЙ КОШКИ. КРАТКОСРОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПАЛЛИАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

А.Н.Лапшин, Е.А.Савина, М.В.Назарова, А.Г.Булатова, Е.А.Комарова, М.Н.Лапшин
Центр ветеринарной малоинвазивной хирургии и диагностики «Комондор»;
Кафедра анатомии и гистологии Московской государственной академии ветеринарной медицины
и биотехнологий им. К.И.Скрябина, г. Москва
VetPharma.- 2014. - №6.

Цель работы. При злокачественной обструкции трахеи лучшим средством лечения является хирургическая резекция, однако если поражены более 4 трахеальных колец, то радикальная операция невозможна. Как паллиативное лечение применяется стентирование трахеи по месту локализации новообразования. Авторы проверили эффективность этого метода в сочетании с лазерной абляцией.

Материалы и методы. На лечение поступила кошка 10 лет с подозрением на злокачественную обструкцию трахеи. Болезнь проявлялась шумным и затрудненным дыханием в последние месяцы. На рентгенограмме имелись признаки интралуминарного роста новообразования в дистальной части трахеи.

Под общей анестезией животному в гортань введен эндоскоп диаметром 2,7 мм. На расстоянии 8-10 см от гортани в просвете трахеи определялось объемное новообразование, обтурирующее до 90% просвета; выполнена его щипцовая биопсия (ее результат – высокодифференцированный плоскоклеточный рак). Число пораженных трахеальных колец было более 4, и для нормализации дыхания животного применили лазерную абляцию, удалив значительный объем новообразования. Это позволило расширить просвет трахеи, и в него был установлен полупокрытый стент.

Результаты и обсуждение. Через сутки после операции плевральный дренаж был снят, а через 3 суток животное в удовлетворительном состоянии было выписано домой. При осмотре через 14 дней шумное и затрудненное дыхание отсутствовало, дыхательная функция полностью восстановилась. Через 62 дня после лазерной абляции и стентирования при рентгенографии выявлено нормальное положение стента, плюс-ткани в просвете трахеи не определялись. Рентгенокопия акта дыхания у животного в сознании через 110 дней после операции показала, что просвет трахеи интактен и компрессия стента отсутствует. Безрецидивный период составил на момент осмотра около 4 месяцев.

Выводы. Данный случай – первая успешная попытка комбинирования лазерной абляции и стентирования в паллиативной терапии рака трахеи у мелких домашних животных. Ее положительные результаты позволяют применить эту клиническую тактику в других случаях подобных поражений.

**ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
КРАСНОГО (635 НМ) И ИНФРАКРАСНОГО (904 НМ) СПЕКТРОВ НА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ
СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO***

С.В.Москвин, Д.Ю.Ключников, Е.В.Антипов, С.Е.Волчков, О.Н.Киселева
ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины» ФМБА РФ, г. Москва;
ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции», г. Самара;
НОУ ВПО «Медицинский институт РЕАВИЗ», г. Самара

Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - 2014. - №6. - С.40-46.

Цель работы. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) человека перспективны в клинической медицине и косметологии. Одним из способов неспецифического регулирования клеточной активности МСК на этапе культивирования *in vitro* является воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ). В работе изучено использование для этого красного и инфракрасного импульсного НИЛИ.

Материалы и методы. В эксперименте использовалась адгезивная культура МСК человека 4-го пассажа, полученных из ткани пуповины донора. Культивирование проводили в течение 6 суток на чашках Петри с использованием стандартных питательных сред. Жизнеспособность МСК оценивали автоматически на анализаторе клеток

Для освечивания с экспозицией 5 мин. использовали терапевтический аппарат «Лазмик-ВЛОК», матричные лазерные головки с 8 светодиодами, расположенными в два ряда – инфракрасными (длина волны 904 нм, длительность импульса 108 нс, частота 1500 Гц и многочастотный режим Лазмик, плотность мощности 0,05 и 0,14 мВт/см²) или красными (длина волны 635 нм, длительность импульса 144 нс, частота 1500 Гц и многочастотный режим Лазмик, плотность мощности 0,03 и 0,12 мВт/см²).

Результаты и обсуждение. При используемых параметрах НИЛИ морфология и жизнеспособность, пролиферативная активность и скорость роста МСК *in vitro* существенно не меняются. В то же время наблюдалось небольшое превышение количества клеток над уровнем контроля, наиболее выраженное при воздействии инфракрасным НИЛИ в режиме многочастотной модуляции Лазмик. Эффект проявлялся в наибольшей степени в период с 1-го по 3-й день культивирования.

Выводы. Необходимы дополнительные исследования для оптимизации параметров НИЛИ с возможным расширением методики освечивания МСК на период после имплантации *in vivo*.

ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНЫХ АГРОТЕХНОЛОГИЙ НА КУБАНИ

П.С.Журба

ООО НПФ «Биолазер», г. Краснодар, Россия

Фотоника. - 2014. - №5. - С.90-103.

Цель работы: оценка эффективности новых лазерных инструментов, биологических регламентов лазерной обработки (ЛО) семян и посевов, адаптированных к производственным условиям.

Материалы и методы. Для промышленного возделывания сельскохозяйственных культур создана лазерная установка ЛУ-2, воздействующая на семена в закрытом складе и растения в полевых условиях красным излучением (длина волны 650 нм) полупроводникового лазера. Она отличается мобильностью, простотой работы (в том числе в автоматическом режиме) и технического обслуживания.

Технология ЛО семян и растений томатов испытана в 2012 г. в Краснодарском крае, где был организован производственный опыт выращивания в открытом грунте на двух полях по 25 га – опытном и контрольном. Проведена 1 предпосевная ЛО семян и 3 ЛО растений при движении трактора с работающей установкой ЛУ-2 по технологической колее в темное время суток.

В агротехнологии выращивания риса используются: 1) планировка рисовых полей с лазерным контролем плоскости при погрешности уровня воды в чеке не более 2-3 см; 2) предпосевная ЛО семян риса в зерноскладе при автоматическом режиме работы установки ЛУ-2; 3) ЛО растений риса и воды на чеках. Предпосевная активация семян риса увеличивает энергию их прорастания, что позволяет получать всходы из-под слоя воды глубиной до 25-30 см, при которой отпадает необходимость в гербицидах.

Результаты и обсуждение. При выращивании томатов с опытного поля, где применялась лазерная агротехнология, дополнительно получено 150 т продукции, а дополнительная прибыль от ее применения составила 963,5 тыс. руб.

Лазерная высокоточная планировка полей и активация семян позволили получить к уборке 500-600 побегов риса на 1 м². Лазерная агротехнология возделывания риса без гербицидов дает возможность защитить семена и растения от болезней и получить прибавку урожая до 10 ц/га. ЛО дешевле химической обработки в 4 раза, не приводя к нежелательным последствиям для экологии.

Экономический эффект ЛО семян и растений подтверждается на озимой и яровой пшенице, ячмене, сахарной свекле, на других технических и овощных культурах, что дает возможность использовать этот агроприем комплексно в севооборотах.

Выводы. Эффективность лазерной технологии обработки семян и растений зерновых и технических культур подтверждена исследованиями и полевыми испытаниями.

ИНСТРУКЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

В редакцию подаются на CD-дисках или по электронной почте отдельными файлами:

- 1) статья, оформленная согласно требованиям;
- 2) иллюстрации (отдельными графическими файлами);
- 3) сведения об авторах (фамилия, имя, отчество; должность; научная степень, ученое звание; место работы; научные достижения; количество печатных статей, патентов и др.; адрес электронной почты; адрес для переписки; контактные телефоны);
- 4) качественные портретные фотографии авторов форматом 5 см (высота)х4 см (ширина) (см. требования к фотографиям). **Фотографии, вставленные в Word не допускаются!**

Макет страницы

Поля на страницах: верхнее и нижнее – 2 см; левое – 3 см; правое – 2 см.

Интервал межстрочный – одинарный.

Гарнитура шрифта Times New Roman.

Размер шрифта: 11 pt для текста, 10 pt для таблиц.

Текст статьи строится по структурной схеме:

1. УДК
2. Заголовок статьи
3. Фамилии и инициалы авторов
4. Название организации авторов, адрес, телефон, факс, электронный адрес
5. Аннотация на языке оригинала
6. Ключевые слова
7. Основной текст статьи
8. Список литературы
9. Аннотации на английском и украинском языках (если статья на русском языке) вместе с транскрипциями фамилий авторов, переводом названия работы и соответствующими списками ключевых слов. **Машинный перевод аннотаций не принимается.**

Структурные элементы

Формулы и входящие в них символы, упоминаемые в тексте, должны быть набраны в редакторе формул Math Type Equation. Каждая формула должна быть отдельным объектом, шрифт всех формул однообразен. Обязательна нумерация формул – в круглых скобках с правой выключкой.

Иллюстрации (рисунки, диаграммы и схемы, чертежи) должны быть подготовлены с помощью графических редакторов и переданы в виде графического файла изображения, размерами не менее 60х60 мм. Графики и чертежи должны быть выполнены в векторном редакторе (*.cdr).

Фотографии должны иметь разрешение 300 dpi и формат JPG или TIFF. Не допускается вставка рисунков в файл статьи непосредственно из прикладных программ (Excel и т.п.), минуя графический формат.

Все иллюстрации и таблицы должны содержать названия (для рисунков – снизу, для таблиц – сверху), они должны располагаться в соответствующих местах текста статьи и быть последовательно пронумерованы.

Термины и обозначения технических параметров следует употреблять в соответствии с нормами Госстандарта, а единицы измерения – в международной системе единиц (СИ).

Требования к изложению текста статьи

Название статьи должно быть кратким, информативным и отображать содержание статьи.

Аннотация должна иметь объем – до 10 строк. Она строится по типу рефератов в реферативных журналах и отображает суть экспериментов, основные результаты и их интерпретацию. Аннотация не должна содержать балластные слова, вводные фразы и неинформативные выражения.

Раздел **«Введение»** должен содержать постановку проблемы в общем виде и ее связь с важными научными или практическими задачами; краткий анализ последних исследований и публикаций, в которых начато решение данной проблемы, выделение конкретных нерешенных вопросов, которым

посвящается статья, формулировку цели работы. Иными словами, введение должно отвечать на вопросы: что известно в данной области; что остается неизвестным; какова задача данной работы.

Раздел **«Методика»** должен содержать сведения об объектах исследования, условия экспериментов, аналитические методы, приборы и реактивы. В этом же разделе даются сведения о повторностях экспериментов, методах статистического анализа результатов.

В разделе **«Результаты»** необходимо описать выявленные эффекты. Изложение результатов должно отображать закономерности, которые вытекают из полученных данных.

Задачей раздела **«Обсуждение»** является обобщение и интерпретация результатов, анализ причинно-следственных связей между выявленными эффектами. Полученную информацию необходимо сравнить с имеющимися литературными данными и показать ее новизну. Обсуждение должно завершаться ответом на вопрос, который поставлен во введении.

Ссылки на литературу в тексте подаются в квадратных скобках арабскими цифрами. Литературные источники должны располагаться в алфавитном порядке (сначала – кириллицей, потом - латиницей). Библиографическое описание приводится в соответствии с действующим международным стандартом ГОСТ 7.1-84, на языке оригинала.

Ниже приводятся примеры описания библиографических источников:

1) *Один автор*: Ніколенко В.Ю. Хвороби нервової системи в гірників і імунопатологія. – Донецьк: Донеччина, 1999. – 288 с.

2) *Два и более авторов*: Корж А.А. Посттравматический остеомиелит – инфекционное осложнение открытых повреждений / А.А. Корж, Г.В. Бэц // Искусство лечения. – 2004. – № 8. – С. 56-59.

Каплан А.В. Гнойная травматология костей и суставов / А.В.Каплан, Н.Е. Махсон, В.М. Мельникова. – М.; К.: Медицина, 1985. – 384 с.

Ono W. Osteomyelitis / W.Ono, K.Saotome // Ryoikibetsu Shokogun Shirizu. – 1999. – Vol. 23, №1. – P. 599-602.

3) *Пять и больше авторов*: Бідненко С.І. Мікробіологічний спектр збудників хронічного остеоієліту довгих кісток верхньої кінцівки та антибіотикотерапія захворювання / С.І. Бідненко, М.П. Грицай, Д.В. Івченко та ін. // Укр. мед. альманах. – 2002. – Т. 5, № 1. – С. 17-20.

Редакционная подготовка

Статья, которая поступает в редакцию, регистрируется и направляется научному рецензенту, подписывающему статью в печать. При наличии замечаний статью возвращают авторам на доработку. Исправленный вариант автор должен вернуть в редакцию вместе с ответом на замечания.

Редакция оставляет за собой право исправлять и сокращать рукопись, а также возвращать авторам работы, которые не соответствуют профилю журнала и требованиям редакции.

Наукове видання

ФОТОБІОЛОГІЯ
ТА
ФОТОМЕДИЦИНА

Міжнародний науково-практичний журнал
т. XII, № 3, 4 '2014

Українською, російською, англійською мовами

Комп'ютерне верстання М. В. Швачка

Підписано до друку 02.10.2014. Формат 60x84/8.

Папір офсетний. Друк ризографічний

Умов. друк арк. 11,21. Обл.-вид. арк. 16,21.

Тираж 200 прим. Ціна договірна

61022, м. Харків, пл. Свободи, 4,
Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

Надруковано з комп'ютерного набору ФОП «Петрова І.В.»

61144, м. Харків, вул. Гвардійців Широнінців, 79 в, к. 137,

тел. 38 (057) 362-01-52

Свідоцтво про державну реєстрацію ВОО №948011 від 03.01.03

Фотобиология и Фотомедицина

Наши авторы:



Байбеков Искандер Мухамедович
Д.м.н., профессор, руководитель лаборатории патологической анатомии Республиканского специализированного центра хирургии имени академика В. Вахидова



Бирюкова Светлана Васильевна
Д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и микробиологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Бондаренко Людмила Александровна
Д.б.н., заведующая лабораторией хроноэндокринологии
ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я.Данилевского НАМН Украины»



Велигоря Ирина Евгеньевна
К.м.н., доцент кафедры стоматологии и терапевтической стоматологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Владимиров Андрей Александрович
Заведующий отделом клинических исследований ООО «НМЦ Мединтех»



Войда Юлия Валерьевна
К.б.н., доцент кафедры клинической иммунологии и микробиологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Войтсехович Валерий Степанович
К.ф.-м.н., научный сотрудник Института физики НАН Украины



Воробьев Владимир Владимирович
К.м.н., врач-рентгенолог
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»



Гамалея Николай Федорович
Д.б.н., профессор, заведующий лабораторией квантовой нанобиологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени Р.Е.Кавецкого НАН Украины



Горбенко Екатерина Ивановна
Магистрант кафедры микробиологии и общей иммунологии ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Горбунов Олег Викторович
Младший научный сотрудник отдела функциональной нейрохирургии с группой патоморфологии
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»



Долинский Геннадий Анатольевич
К.м.н., старший научный сотрудник лаборатории квантовой нанобиологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени Р.Е.Кавецкого НАН Украины



Журавлева Лариса Владимировна
Д.м.н., заведующая кафедрой внутренней медицины № 3 Харьковского национального медицинского университета



Заболотная Наталия Ивановна
К.т.н., доцент, декан факультета функциональной электроники и лазерной техники Винницкого национального технического университета



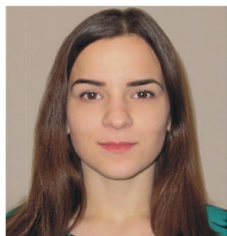
Иванченко Дмитрий Дмитриевич
К.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник НИИ биологии, ведущий научный сотрудник кафедры теоретической радиофизики Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина



Казанский Олег Владимирович
К.ф.-м.н., научный сотрудник кафедры теоретической радиофизики Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина



Каптановский Евгений Валентинович
Инженер ЧМПП "Фотоника Плюс"



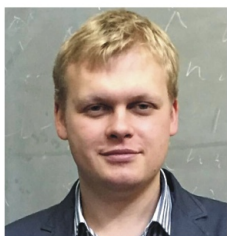
Кислухина Маргарита Алексеевна
Техник I категории лаборатории квантовой нанобиологии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии имени П.Е.Кавецкого НАН Украины



Климов Александр Сергеевич
К.ф.-м.н., ассистент кафедры радиотехники и радиоэлектронных систем Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Козак Виктория Анатольевна
Младший научный сотрудник лаборатории хроноэндокринологии ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я.Данилевского НАМН Украины»



Коломиец Иван Сергеевич
Аспирант кафедры электрофизики Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Колчигин Николай Николаевич
Д. ф.-м.н., профессор, заведующий кафедрой теоретической радиофизики Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина, лауреат Государственной премии Украины



Коробов Анатолий Михайлович
К.ф.-м.н., заведующий НИ лабораторией квантовой биологии и квантовой медицины Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина



Коробов Всеволод Анатольевич
Научный сотрудник НИ лабораторий квантовой биологии и квантовой медицины Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина



Костиковская Анна Евгеньевна
К.м.н., доцент кафедры ультразвуковой диагностики и кафедры лучевой диагностики Харьковской медицинской академии последипломного образования



Кузнецов Константин Андреевич
Аспирант, младший научный сотрудник НИИ биологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина



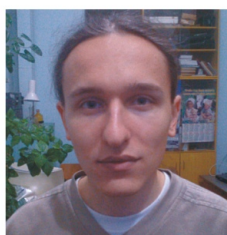
Кувельяк Валентина Федоровна
Д.м.н., профессор, заведующая кафедрой стоматологии и терапевтической стоматологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Левковская Виктория Ивановна
Врач-физиотерапевт, заведующая отделением восстановительного лечения Дорожной клинической больницы №2



Леонов Василий Васильевич
Д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургии с детской хирургией с курсом урологии медицинского института Сумского государственного университета



Магда Иван Юрьевич
Аспирант НИИ биологии Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина



Макаров Валерий Николаевич
Заведующий отделением функциональной нейрохирургии и пароксизмальных состояний ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», нейрохирург



Мелуховец Юрий Владимирович
Аспирант кафедры хирургии с детской хирургией с курсом урологии медицинского института Сумского государственного университета



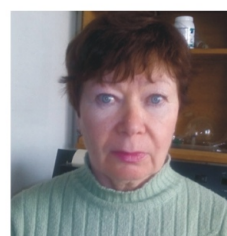
Мелуховец Оксана Константиновна
К.м.н., доцент кафедры семейной медицины с курсом пропедевтики внутренних болезней и эндокринологии медицинского института Сумского государственного университета



Михайлов Анатолий Иванович
Заведующий отделением анестезиологии с койками интенсивной терапии ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»



Павлов Сергей Владимирович
Д.т.н., профессор, проректор по научной работе, заведующий кафедрой общей физики и фотоники Винницкого национального технического университета, академик Международной Академии прикладной радиоэлектроники



Пасмурцева Наталья Алексеевна
Научный сотрудник Института биокolloидной химии имени Ф.Д.Овчаренко НАН Украины



Пасюга Владимир Николаевич
К.б.н., научный сотрудник отдела генетики НИИ биологии ХНУ имени В.Н.Каразина, научный сотрудник лаборатории противорадиационных препаратов ГУ «Институт медицинской радиологии имени С.П. Григорьева НАН Украины»



Полторацкая Татьяна Петровна
Научный сотрудник Института биологической химии имени Ф.Д.Овчаренко НАН Украины



Пономарев Гелий Васильевич
Д.х.н., профессор, ведущий научный сотрудник НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН



Попов Вячеслав Дмитриевич
Ведущий научный сотрудник НИИ физической культуры и спорта НАН Украины, заместитель председателя спортивно-медицинского комитета Федерации футбола Украины



Посохов Николай Федорович
К.м.н., доцент, руководитель отдела функциональной нейрохирургии с группой патоморфологии ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАН Украины»



Пулатов Дилмурод Тухтабоевич
Старший научный сотрудник-соискатель отделения экстренной хирургии Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи, Ташкент



Пушкарь Людмила Юрьевна
К.м.н., доцент кафедры стоматологии и терапевтической стоматологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Радченко Ольга Сергеевна
К.б.н., доцент кафедры микробиологии и общей иммунологии ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Ровира Рональд
Аспирант кафедры общей физики и фотоники Винницкого национального технического университета, преподаватель университета "Estatel Peninsula de Santa Elena", Кито, Эквадор



Савенков Сергей Николаевич
Д.ф.-м.н., заведующий кафедрой электрофизики Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Садиков Расул Рустамович
К.м.н., младший научный сотрудник кафедры ВОП хирургии Ташкентской медицинской академии



Самойлова Кира Александровна
Д.б.н., доцент кафедры микробиологии животной клетки Института цитологии РАН, Санкт-Петербург



Самченко Юрий Маркович
Д.х.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией функциональных гидрогелей Института биологической химии имени Ф.Д.Овчаренко НАН Украины



Северин Лариса Викторовна
Ассистент кафедры стоматологии и терапевтической стоматологии Харьковской медицинской академии последипломного образования



Синяченко Юрий Олегович
Сосудистый хирург Сумской клиники лазерной медицины



Сотник Наталия Николаевна
Младший научный сотрудник лаборатории хроноэндокринологии ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я.Данилевского НАН Украины»



Степура Лариса Григорьевна
К.т.н., доцент кафедры микробиологии и общей иммунологии ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко



Странадко Евгений Филиппович
Д.м.н., профессор, хирург-онколог высшей категории, руководитель отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии ГНЦЛМ МЗ России, основатель школы фотодинамической терапии



Тужанский Станислав Евгеньевич
Инженер кафедры лазерной и оптоэлектронной техники Винницкого национального технического университета



Ульберг Зоя Рудольфовна
Д.х.н., директор Института биологической химии имени Ф.Д.Овчаренко НАН Украины



Униченко Антонина Васильевна
Магистр медицинской психологии,
аспирант кафедры психологии МАУП



Утрерас Андрес
Аспирант кафедры общей физики
и фотоники Винницкого национального
технического университета,
преподаватель Escuela Politécnica Nacional,
Кито, Эквадор



Федоров Владимир Александрович
К.м.н., доцент кафедры внутренней медицины
№ 3 Харьковского национального
медицинского университета



Хашимов Фарход Файзуллаевич
Старший научный сотрудник-исследователь
кафедры кожных и венерических болезней
Ташкентской Медицинской Академии



Холин Владимир Викторович
Директор ЧМПП «Фотоника-Плюс»



Чепурная Оксана Николаевна
Инженер ЧМПП «Фотоника Плюс»



Чунихина Екатерина Игоревна
Студентка 3 курса факультета радиофизики,
электроники и компьютерных систем
Киевского национального университета
имени Тараса Шевченко



Чухраев Николай Викторович
К.т.н., академик Международной Академии
Технических Наук, учредитель и директор
ООО НМЦ «Медитех»



Шкорбатов Юрий Георгиевич
Д.б.н., профессор, заведующий отделом
генетики НИИ биологии Харьковского
национального университета
имени В.Н.Каразина



Штонь Ирина Александровна
Ведущий инженер лаборатории квантовой
нанобиологии Института экспериментальной
патологии, онкологии и радиобиологии
имени РЕ.Кавецкого
НАН Украины

Міжнародний науково-практичний журнал

ФОТОБІОЛОГІЯ ТА ФОТОМЕДИЦИНА

Фотобиологія і Фотомедицина
Photobiology and Photomedicine

Фотонно-магнітні апарати Коробова А. – Коробова В.
для лікування вогнепальних, опікових
та інших ран, які довго не загоюються.



