

УДК 616.5–001.27:615.8

НИКОЛАЙ ВИЛЛЕНОВИЧ КРАСНОСЕЛЬСКИЙ, ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА ПУШКАРЬ  
ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

## ДЕЙСТВИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ АО-СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА У ЖИВОТНЫХ С ИНФИЦИРОВАННЫМИ ЛУЧЕВЫМИ ЯЗВАМИ

**Цель работы.** Изучение способности организма поддерживать системный антиокислительный гомеостаз при локальном применении фотодинамической терапии на область инфицированной *Staphylococcus aureus* лучевой язвы.

**Материалы и методы.** В работе использованы 80 самцов крыс с локальным облучением кожи бедра в дозе 85,0 Гр. На 7-е сутки подопытных животных инфицировали штаммом бактерий *Staphylococcus aureus*. Сеанс ФДТ проводили на аппарате «Барва-LED/630» с фотосенсибилизатором метиленовым синим через 24 часа после инфицирования. Состояние антиоксидантной системы изучали по показателям активности клеточных антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (К).

**Результаты.** Установлено, что активность СОД на ранних сроках после облучения не изменялась по сравнению с нормой. В более отдаленные сроки наблюдения (14–21 сут.) активность СОД характеризовалась достоверным снижением в среднем на 25–50 %. По мере спонтанного заживления лучевой язвы наблюдалась тенденция к восстановлению фермента. Инфицирование лучевой язвы снижало активность СОД (на 50 %,  $p < 0,05$ ) как по отношению к норме, так и к показателям в только облученном контроле. После проведения сеанса ФДТ на инфицированную лучевую язву *S. aureus* активность СОД не снижалась, а сохранялась на уровне нормальных значений вплоть до конца наблюдений, значимо превышая соответствующий показатель в нелеченых группах.

Локальное воздействие ионизирующей радиации сопровождалось с первых суток значимым подъемом уровня активности каталазы на 34 % ( $p < 0,05$ ), в дальнейшем активность фермента каталазы снижалась в 2 раза ( $p < 0,05$ ). При инфицировании лучевого повреждения кожи (лучевой язвы) *S. aureus* не наблюдалось существенного изменения активности каталазы по сравнению с группой, только подвергшейся лучевому воздействию. У животных с инфицированной язвой и лечением с помощью ФДТ наблюдалось восстановление уровня активности антиоксидантного фермента каталазы вплоть до 45-х суток наблюдения.

**Выводы.** Применение ФДТ на область инфицированной лучевой язвы способствует восстановлению потенциала антиоксидантной защиты с нормализацией показателей как антирадикального, так и антиперекисного звена (СОД, К).

**Ключевые слова:** инфицированная лучевая язва, фотодинамическая терапия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, антиоксидантные ферменты — супероксиддисмутаза и каталаза.

Местные радиационные поражения кожи и подлежащих тканей возникают при неравномерном облучении участков тела в аварийных ситуациях и как побочный эффект при лучевой терапии у онкологических больных.

В целом консервативные методы лечения направлены на уменьшение воспалительной реакции, ограничение некробиотических процессов, улучшение микроциркуляции, обезболивание, борьбу с инфекцией и стимуляцию репаративных процессов [14–17].

Существует много методов профилактики и лечения лучевых реакций нормальной кожи. В настоящее время активно изучаются влияние иммуномодуляторов, колониестимулирующих факторов,

рекомбинантного человеческого фактора роста, а также антиоксидантов.

Отдельные способы лечения оказывают симптоматические эффекты с улучшением или восстановлением целевых показателей. При патологии с системными нарушениями гомеостаза, как это происходит при повреждениях ионизирующей радиацией, должно быть комплексное лечебное воздействие на весь организм как целостную систему.

Всем этим требованиям отвечает лечебный способ фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием излучения красного цвета (630–640 нм) оптического диапазона. Метод ФДТ обладает способностью инициировать ответ организма как единой целостной системы [18, 19].

© Н. В. Красносельский, Е. С. Пушкарь, 2019

Многочисленные повреждающие факторы окружающей среды (повышенный радиационный фон, интенсивный шум, нестабильный температурный фон, микробная и эндогенная интоксикация и др.) оказывают существенное влияние на процессы перекисидации и понижение функциональной активности антиоксидантной системы организма.

В настоящее время доказано, что процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме поддерживается на стационарном уровне с помощью системы антиоксидантной защиты (АОС). Антиоксиданты — это соединения, которые снижают образование свободных радикалов, предотвращая тем самым возможность повреждения клеток и тканей. Антиоксиданты подавляют цепные реакции липидной перекисидации, а также снижают образование липидных и липопероксильных радикалов, которые участвуют в цепных реакциях перекисного окисления липидов и вызывают повреждения клеточных структур. Антиоксидантная система защиты организована и работает по принципу отрицательной обратной связи, что эффективно регулирует процессы ПОЛ [1].

Наиболее агрессивным из активных форм кислорода (АФК) является супероксидный анион-радикал  $O_2^-$ , который нарушает как функцию клеток (повреждение фосфолипидного слоя клеточной мембраны), так и непосредственно вызывает гибель клеток (цитотоксический эффект). Противодействие оксидативному стрессу и нейтрализацию отдельных активных форм кислорода, свободных радикалов осуществляют антиоксиданты, защищающие и поддерживающие структурные свойства полиненасыщенных жирных кислот в липидах мембран. Особый интерес из группы антиоксидантов представляют внутриклеточные антиоксидантные ферменты, а именно — супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (К), которые катализируют последовательные этапы процесса ПОЛ [2–4].

СОД в начальной стадии антиокислительного процесса дисмутирует супероксидный анион-радикал  $O_2^-$  с образованием  $H_2O_2$ . В завершающем этапе подавления процесса ПОЛ участвует антиоксидантный фермент каталаза, который катализирует окисление  $H_2O_2$ .

В наших предыдущих работах было показано, что системные фотодинамические эффекты отмечались при использовании как наружных (экстракорпоральных), так и внутренних (интракорпоральных) методов лазерной терапии.

Цель настоящей работы — изучение системного антиокислительного гомеостаза при локальном применении фотодинамической терапии на область инфицированной *Staphylococcus aureus* лучевой язвы.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы 80 самцов крыс линии Вистар с массой тела 180–200 г.

Подопытные животные получали лучевые повреждения при локальном облучении участка кожи на внешней поверхности бедра крысы в дозе 85,0 Гр на рентгенотерапевтическом аппарате TUR-60. Условия рентгеновского облучения были следующими:

напряжение  $U = 50$  кВ, анодный ток  $I = 10$  мА, фильтр 0,6 мм Al, эффективная энергия 18 кэВ.

Животных содержали в одинаковых стандартных условиях вивария (еда и вода ad libitum). Все манипуляции с животными и эвтаназию выполняли под наркозом, что соответствует требованиям и методическим рекомендациям [5, 6].

Подопытные животные были разделены на четыре группы: I — интактные животные (норма); II — крысы с лучевой язвой кожи (контроль 1); III — крысы с лучевой язвой, инфицированной *S. aureus* (контроль 2); IV — крысы с лучевой язвой, инфицированной *S. aureus*, получавшие лечение методом ФДТ (опытная группа).

Лучевые повреждения кожи животных в группах III и IV инфицировали штаммом бактерий *Staphylococcus aureus* на 7-е сутки после локального облучения при появлении признаков развития лучевой язвы. Для инфицирования использовали музейный референтный штамм *S. aureus* ATCC 25923, полученный из музея живых микроорганизмов лаборатории специфической профилактики капельных инфекций отдела микробиологии ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины».

Фотодинамическую терапию проводили через 24 часа после инфицирования с применением фотосенсибилизатора 0,1 % водного раствора метиленового синего (*Methylenum coeruleum*), наносимого на раневую поверхность лучевой язвы. Через 30 минут экспозиции проводился сеанс красного излучения светодиодного аппарата «Барва-LED/630».

Предварительно проводилось специальное тестирование метиленового синего с изучением его антимикробных свойств в отдельных экспериментах *in vitro* (в чашках Петри с культурой *S. aureus*) и *in vivo* на отдельной группе крыс с инфицированными лучевыми язвами. В обоих случаях метиленовый синий сам по себе не оказывал антимикробного эффекта на патогенный бактериальный штамм. Однако после последовательного воздействия фотосенсибилизатора и света, т. е. ФДТ, уже через сутки была зафиксирована 100 % гибель *S. aureus*.

Аппарат «Барва-LED/630» изготовлен в лаборатории квантовой биологии и квантовой медицины (руководитель А. М. Коробов) радиофизического факультета Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. Аппарат представляет собой единственный светодиод; площадь светового потока соответствует начальной площади лучевой язвы у крыс. Мощность красного излучения 25 мВт, длина волны — 630–650 нм. Продолжительность облучения светом язвы с нанесенным фотосенсибилизатором — 30 минут, энергетическая доза за сеанс — 45 Дж/см<sup>2</sup>.

Забор материала для микробиологических и биохимических исследований проводили на 7-е, 14-е, 21-е, 30-е и 45-е сутки после инфицирования.

Состояние антиоксидантной системы изучалось по показателям активности важнейших клеточных

антиоксидантних ферментів — каталази (К) і супероксиддисмутазы (СОД). В живих клітках супероксиддисмутазы інактивує супероксидний аніон-радикал шляхом рекомбінації (дисмутазії) радикалов з утворенням перекиси водороду і молекулярного кисню. Перекись водороду в клітках в основному руйнується ферментом каталази.

Активність антиоксидантного ферменту супероксиддисмутазы ми оцінювали методом окислення кверцетину в модифікації В. О. Костюка і соавт. [7]. Активність другого антиоксидантного ферменту — каталази — визначали за методом М. А. Королюка і соавт. з використанням перекиси водороду і молибдату аммонія [8].

Крім того, мікробіологічно досліджували щільність колонізації інфіцираних лучевих язв. Мікробіологічні дослідження проводилися

згідно діючим нормативним документам і загальноприйнятими методиками [9, 10].

Статистичну обробку проводили з допомогою пакета програм Statistica 10.0, використовуючи непараметричні методи статистики, і точний метод Фішера. Достовірність різниць між середніми значеннями показувачів вважали значимими при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ І ЇХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Динамика змін рівня активності СОД в сироватці крові

Активність СОД в сироватці крові інтактних крыс становила 4,80 у. е. (табл. 1) при локальному впливі іонізуючої радіації в дозі 85,0 Гр активності СОД на ранніх термінах після облучення (до 7-х діб) не змінювалася — 100,6 % порівняно з нормою.

Таблиця 1

### Активність супероксиддисмутазы в сироватці крові крыс після інфіцирования місцевого лучевого пошкодження шкіри *S. aureus* і після впливу ФДТ, у. е.

№	Група крыс	Терміни спостереження після інфіцирования, дні				
		7	14	21	30	45
1	Інтактна $n = 20$	4,80 ± 0,33 100,0 %				
2	МЛП $n = 20$	4,83 ± 0,10 100,6 %	3,56 ± 0,13* 74,2 %	2,53 ± 0,17* 52,7 %	4,07 ± 0,10 84,8 %	4,29 ± 0,22 89,4 %
3	МЛП + <i>S. aureus</i> $n = 20$	4,82 ± 0,12 100,4 %	2,71 ± 0,15* ** 56,5 %	2,24 ± 0,36* ** 46,7 %	2,20 ± 0,10* ** 45,8 %	3,25 ± 0,14* ** 67,6 %
4	МЛП + <i>S. aureus</i> + ФДТ $n = 20$	4,46 ± 0,52 92,9 %	4,82 ± 0,5*** 100,4 %	4,06 ± 0,10*** 84,6 %	5,38 ± 0,19*** 112,1 %	5,58 ± 0,36*** 116,2 %

Примечание: \* — різниця достовірна між показувачами інтактною і досліджуваною групами ( $p < 0,05$ ); \*\* — різниця достовірна між показувачами груп МЛП і інфіцираних груп; \*\*\* — різниця достовірна між показувачами інфіцираних груп без лікування і аналогічних груп з ФДТ.

В більш віддалені терміни спостереження за розвитком лучевої язви, в період гнійно-некротических і запальних фаз, активність СОД зменшувалася і характеризувалася достовірним зниженням в середньому на 25–50 % ( $p < 0,05$ ). На заключительному етапі експерименту, паралельно до спонтанного заживлення язви, спостерігалася тенденція до відновлення ферменту.

В групі тварин з інфіцираними лучевими язвами *S. aureus* рівень активності СОД зберігався в перші терміни (до 7-х діб) після радіаційно-інфіцированного пошкодження. В період гнійно-некротическої фази спостерігалася різке падіння активності СОД (на 50 %,  $p < 0,05$ ) як порівняно з нормою, так і до показувачів в тільки облученому контролі.

Кінці спостереження на фоні перших ознак заживлення лучевих язв (45 діб) і розвитку відновлювальних процесів в організмі показувачі активності СОД відновлювалися, але вони залишалися пониженими на 33 % порівняно з нормою, так і порівняно з неінфіцированной язвою ( $p < 0,05$ ).

Після проведення сеансу ФДТ на інфіцированную лучеву язву *S. aureus* активність СОД

не зменшувалася, а зберігалася на рівні нормальних значень впродовж до кінця спостережень, значимо перевищує відповідний показувач в нелікуваних групах.

Відновлення супероксидазної активності в лікуваній групі відбувалося на фоні регенерації і збільшення біосинтезу білка після ФДТ. За даними роботи академіка Ю. А. Володимирова і др. збільшення активності СОД (іноді воно було в раз!) пов'язано з активацією біосинтезу ферменту в результаті впливу інтенсивного світла в червоній області спектра. В представленій роботі метод ФДТ також здійснювався з допомогою облучення лучевої язви світлом в червоній області спектра (довжина хвилі — 630–650 нм), що обумовлювало підвищений синтез СОД [11, 12]. Тенденція до відновлення активності СОД в контрольних групах відбувалася в період спонтанного заживлення лучевої язви, т. е. на фоні збільшення білкового синтезу.

### Динамика змін активності каталази

Відповідно до впливу іонізуючої радіації (85,0 Гр) на локальний ділянку шкіри бедра крыси відбувався тимчасовий значимий підйом рівня активності каталази на 34 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

**Активность каталазы в сыворотке крови крыс после инфицирования местного лучевого повреждения *S. aureus* и после воздействия ФДТ, мкрат/л**

№	Группа крыс	Сроки наблюдения после инфицирования, сутки				
		7	14	21	30	45
1	Интактная <i>n</i> = 20	16,52 ± 1,61 100,0 %				
2	МЛП <i>n</i> = 20	22,15 ± 0,74 * 134,1 %	8,45 ± 0,82 * 51,2 %	12,70 ± 0,46* 76,9 %	8,12 ± 1,17 * 49,2 %	8,52 ± 0,86* 51,6 %
3	МЛП + <i>S. aureus</i> <i>n</i> = 20	17,80 ± 1,20 ** 108,0 %	10,87 ± 0,43 * 65,8 %	10,40 ± 0,43* 63,0 %	10,12 ± 0,36 * 61,3 %	8,64 ± 0,31* 52,3 %
4	МЛП + <i>S. aureus</i> + + ФДТ <i>n</i> = 20	21,24 ± 1,03 * *** 128,6 %	16,05 ± 0,78 ** *** 97,2 %	20,40 ± 1,21 ** *** 123,5 %	18,10 ± 0,45 ** *** 109,6 %	15,00 ± 0,91 ** *** 90,8 %

*Примечание:* \* — разница достоверна между показателями интактной и испытуемой групп ( $p < 0,05$ ); \*\* — разница достоверна между показателями групп МЛП и инфицированных групп; \*\*\* — разница достоверна между показателями инфицированных групп без лечения и аналогичных групп с ФДТ.

На последующих фазах развития лучевой язвы активность фермента каталазы снижалась в 2 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об истощении антиперекисной защиты антиоксидантной системы.

При инфицировании лучевого повреждения кожи (лучевой язвы) *S. aureus* не наблюдалось существенного увеличения активности каталазы по сравнению с группой, только подвергшейся лучевому воздействию (108 % против 134,1 % соответственно,  $p > 0,05$ ). В последующие фазы развития лучевой язвы активность каталазы была стабильно понижена на 40–50 % ( $p < 0,05$ ), что статистически не отличалось от показателей в группе неинфицированной лучевой язвы.

После проведения сеанса ФДТ на инфицированную *S. aureus* лучевую язву активность фермента каталазы не только сохранялась, но и увеличивалась на 28,6 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями в группе с инфицированным контролем (табл. 2). В остальные сроки наблюдения активность фермента каталазы находилась на уровне нормальных значений.

Анализ изменения активности антиоксидантных ферментов СОД и К в группах крыс с неинфицированными и инфицированными лучевыми язвами показал тенденцию к постепенному и глубокому истощению активности ферментов на протяжении всех фаз развития лучевой язвы с минимальными показателями (в 1,5–2 раза ниже нормы,  $p < 0,05$ ). Отсутствие статистически значимых различий в показателях активности каталазы между только облученными и инфицированными лучевыми язвами нивелирует значение влияния дополнительного инфекционного фактора на метаболизм этого фермента.

После воздействия на область инфицированной лучевой язвы сеанса фотодинамической терапии наблюдалась стабильность в восстановительных

процессах антиоксидантной системы, что выражалось в восстановлении уровня активности изучаемых антиоксидантных ферментов.

Снижение активности антиоксидантных ферментов в контрольных группах отражает неспособность организма противостоять увеличению активных форм кислорода и их производных в ответ на действие ионизирующего излучения и инфекционного фактора, что обуславливает развитие патологических механизмов с нарушением гомеостаза в различных системах и органах [13].

Повышение уровня антиоксидантных ферментов каталазы и СОД в крови после воздействия фотодинамической терапии является благоприятным признаком, свидетельствующим о компенсаторных возможностях организма, тогда как их снижение отражает неспособность организма противостоять увеличению активных форм кислорода и их производных.

Истощение антиоксидантной системы в нелеченых группах указывает на необходимость корректирующей терапии. Поэтому, помимо нутритивного восполнения содержания антиоксидантов, фотодинамическую терапию можно рассматривать как высокоэффективный альтернативный метод сохранения и восстановления антиоксидантной системы уже на ранних пострадиационных этапах.

## ВЫВОДЫ

1. Применение ФДТ на область инфицированной лучевой язвы способствует восстановлению потенциала антиоксидантной защиты с нормализацией показателей как антирадикального, так и антиперекисного звена (СОД, К).

2. Восстановление и повышение активности антиоксидантной защиты является обоснованием целесообразности применения ФДТ для восстановления антиоксидантного потенциала.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abrescia P.* Free radicals and antioxidant in cardio — vascular diseases / P. Abrescia, P. Yolino // Expert review of Cardiovascular Therapy. — 2005. — Vol. 3, № 1. — P. 159–171.
2. *Барабой В. А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковой. — Киев : Чернобыльинтеринформ, 1997. — 423 с.
3. *Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания* / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и др. — Новосибирск : АРТА, 2008. — 287 с.
4. *Stone J. R.* The role of hydrogen peroxide in endothelial proliferative response / J. R. Stone, T. Collins // Endothelium. — 2002. — Vol. 9 (4). — P. 231–238.
5. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes* / Council of Europe, Strasbourg. — 1986. — 53 p.
6. *Резніков О. Г.* Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах : метод. рек. / О. Г. Резніков, А. І. Соловійов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісн. фармакології та фармакопеї. — 2006. — № 7. — С. 47–60.
7. *Костюк В. А.* Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Лаборатор. дело. — 1990. — № 2. — С. 88–91.
8. *Королюк М. Н.* Метод определения активности каталазы / М. Н. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаборатор. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–8.
9. *Лабинская А. С.* Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская, А. П. Блинкова, А. С. Ещина. — М. : Медицина, 2004. — 576 с.
10. *Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений* : утв. Приказом МЗ СССР № 535 от 22.04.1985. — 123 с.
11. *Владимиров Ю. А.* О механизме активации СОД-активности при действии лазерного и светодиодного облучения на клетки и ткани человека и животных / Ю. А. Владимиров, Т. В. Жидкова, Е. В. Проскура, Д. Ю. Измайлов // Фотобиология и фотомедицина. — 2012. — № 1/2. — С. 112–117.
12. *Клебанов Г. И.* Сравнительное исследование действия лазерного светодиодного излучения на активность СОД и продукцию оксида азота в раневом экссудате крыс / Г. И. Клебанов, Н. Ю. Тураева, Т. В. Чичук // Биофизика — 2006. — Т. 51, № 1. — С. 116–122.
13. *Зиятдинова А. Р.* Физиологические механизмы действия ионизирующего излучения на организм человека и животных / Зиятдинова А. Р., Шапирова Д. В., Дежаткина С. В. // Науч.-метод. электрон. журн. «Концепт». — 2016. — Т. 17. — С. 837–841.
14. *Simunovic Z.* Wound healing of animal and human body sport and traffic accident injures using low-level laser therapy treatment / Z. Simunovic, A. D. Ivancov, A. Depolo // J. Clin. Laser. Med. Surg. — 2000. — N 2 (18). — P. 67–73.
15. *Странадко Е. П.* Фотодинамическая терапия гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей / Е. П. Странадко // Фотобиология и фотомедицина. — 2011. — № 2. — С. 14–19.
16. *Скляр Н. І.* Мікробіологічне обґрунтування ефективності фотодинамічної терапії на експериментальній моделі інфікованої променевої виразки шкіри / Н. І. Скляр, Л. І. Сімонова-Пушкар, В. В. Саркіс-Іванова, В. З. Гертман // Актуал. пробл. сучас. медицини. — 2016. — Вип. 4, ч. 3. — С. 61–65.
17. *Чердынцева Н. В.* Влияние изучения лазера на парах меди на показатели системы иммунитета у больных с опухолями головы и шеи, получавших дистанционную электронную терапию / Н. В. Чердынцева, А. А. Кузнецова, М. Р. Мухамедов // Рос. онкол. журн. — 2002. — № 1. — С. 21–26.
18. *Бриль Г. Е.* Некоторые методологические аспекты изучения биологических эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения / Г. Е. Бриль // Фотобиология и фотомедицина. — 2007. — № 1/2. — С. 5–13.
19. *Silveira P. C.* Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy / P. C. Silveira, E. L. Streck, R. A. Rinho // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. — 2007. — Vol. 86. — P. 279–282.
20. *Кузьмина И. Ю.* Современные аспекты лазеротерапии. / И. Ю. Кузьмина, Т. М. Краузе // Междунар. мед. журн. — 2006. — № 2. — С. 106–110.
21. *Местные и системные лечебные эффекты внутрисосудистой лазерной терапии у онкологических больных* / Н. В. Красносельский, Л. И. Симонова, Т. С. Завадская и др. // Эксперим. і клін. медицина. — Харків : ХНМУ, 2019. — № 1. — С. 87–93.

Статья поступила в редакцию 8.11.2019.

М. В. КРАСНОСЕЛЬСЬКИЙ, О. С. ПУШКАР

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

### ДЛЯ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА СТАН АО-СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ У ТВАРИН З ІНФІКОВАНИМИ ПРОМЕНЕВИМИ ВИРАЗКАМИ

**Мета роботи.** Вивчення здатності організму підтримувати системний антиокиснювальний гомеостаз при локальному застосуванні фотодинамічної терапії на ділянку інфікованої *Staphylococcus aureus* променевої виразки.

**Матеріали та методи.** У роботі використані 80 самців щурів з локальним опроміненням шкіри стегна в дозі 85,0 Гр. На 7-му добу підслідних тварин інфікували штамом бактерій *Staphylococcus aureus*. Сеанс ФДТ проводили на апараті «Барва-LED/630» з фотосенсибілізатором метиленовим синім через 24 години після інфікування. Стан антиоксидантної системи вивчали за показниками активності клітинних антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД) і каталази (К).

**Результати.** Встановлено, що активність СОД на ранніх термінах після опромінення не змінювалася в порівнянні з нормою. У більш віддалений термін спостереження (14–21 доба) активність СОД характеризувалася достовірним зниженням в середньому на 25–50 %. У міру спонтанного загоєння променевої виразки спостерігалася тенденція до відновлення ферменту. Інфікування променевої виразки знижувало активність СОД (на 50 %,  $p < 0,05$ ) як щодо норми, так і щодо показників у тільки опроміненому контролі. Після проведення сеансу ФДТ на інфіковану променево виразку *S. aureus* активність СОД не знижувалася, а зберігалася на рівні нормальних значень аж до кінця спостережень, значимо перевищуючи відповідний показник у нелікованих групах.

Локальний вплив іонізуючої радіації супроводжувався з перших днів значним підйомом рівня активності каталази на 34 % ( $p < 0,05$ ), у подальшому активність ферменту каталази знижувалася в 2 рази ( $p < 0,05$ ). При інфікуванні променевого ушкодження шкіри (променевої виразки) *S. aureus* не спостерігалася істотної зміни активності каталази в порівнянні з групою, які тільки зазнали променевого впливу. У тварин з інфікованою виразкою і лікуванням за допомогою ФДТ спостерігалася відновлення рівня активності антиоксидантного ферменту каталази аж до 45-ї доби спостереження.

**Висновки.** Застосування ФДТ на ділянку інфікованої променевої виразки сприяє відновленню потенціалу антиоксидантного захисту з нормалізацією показників як антирадикальної, так і антиперекисної ланки (СОД, К).

**Ключові слова:** інфікована променево виразка, фотодинамічна терапія, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, антиоксидантні ферменти — супероксиддисмутаза і каталаза.

M. KRASNOSELSKYI, O. PUSHKAR

SI «Grigoriev Institute for medical Radiology NAMS of Ukraine», Kharkiv

## EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY ON THE STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE ORGANISM IN ANIMALS WITH INFECTED RADIATION-INDUCED ULCERS

**The objective of the work.** To study the capability of the body to maintain systemic antioxidant homeostasis while photodynamic therapy applied locally to the radiation ulcer area infected with *Staphylococcus aureus*.

**Material and methods.** 80 male rats exposed to 85.0 Gy local irradiation of the skin of the thigh were studied. At the day 7 the experimental animals were infected with *Staphylococcus aureus* bacterial strain. The photodynamic therapy (PDT) session was performed on a Barva-LED / 630 unit with methylene blue photosensitizer 24 hours after infection. The state of the antioxidant system was studied by activity indices of cellular antioxidant enzymes — superoxide dismutase (SOD) and catalase (C).

**Results.** It was found that early after irradiation SOD activity showed no changes compared with the norm. In long-term observation (days 14–21) SOD activity was characterized by a significant, 25–50 % on average, decrease. With the radiation ulcer spontaneous healing, tendency to the enzyme restoration was observed. The radiation ulcer infection reduced the SOD activity (50 %,  $h < 0.05$ ) both in relation to the norm and to the levels of the only irradiated controls. After the PDT session on the *S. aureus* infected radiation ulcer, SOD activity showed no decrease, remaining at the level of normal values up to the observation endpoint, that significantly exceeded the corresponding level in the untreated groups. Local exposure to ionizing radiation was accompanied by a significant 34 % ( $h < 0.05$ ) increase in the level of catalase activity, and subsequently, the catalase enzyme activity was twice reduced ( $h < 0.05$ ). No significant change in catalase activity was observed at *S. aureus* contamination of the skin radiation injury (radiation ulcer) compared to the only irradiated group. In animals with infected ulcers and PDT treatment, the level of antioxidant enzyme catalase activity was seen up to the observation day 45.

**Conclusions.** PDT applied for the radiation ulcer infected area promotes the restoration of the antioxidant protection potential and normalizing the levels both of antiradical and anti-peroxide components (SOD, C).

**Keywords:** infected radiation ulcer, photodynamic therapy, lipid peroxidation, antioxidant system, antioxidant enzymes — superoxide dismutase and catalase.

### Контактная информация:

Пушкарь Елена Сергеевна  
врач-интерн отделения ядерной медицины и лучевой патологии  
ГУ «ИМР НАМН Украины»  
ул. Пушкинская, 82, г. Харьков, 61024, Украина  
тел.: +38 (067) 573-85-92  
E-mail: Lena.s.pushkar@gmail.com