ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

УДК 616+615-001.27

Л. І. Сімонова-Пушкар, В. З. Гертман, Л. В. Білогурова✉

Державна установа "Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України", вул. Пушкінська, 82, Харків, 61024, Україна

ЗАСТОСУВАННЯ ФОТОМАГНІТНОЇ ТЕРАПІЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПРОМЕНЕВИХ УШКОДЖЕНЬ ШКІРИ У ЩУРІВ

Мета: удосконалити методи профілактики та лікування місцевих променевих ушкоджень шкіри за допомогою фотомагнітної терапії.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на 60 щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 180–200 г. На рентгенівському апараті локально опромінювали стегнову ділянку правої задньої кінцівки щурів у дозі 80,0 Гр. Опромінені тварини були розподілені на 2 групи: контрольну та дослідну. Щури дослідної групи отримували 2 курси фотомагнітної терапії на опромінену ділянку шкіри. Спостереження проводили впродовж 60 діб. Методи дослідження – загальноклінічні, гістологічні, статистичні.

Результати дослідження. Локальне опромінення шкіри щурів викликає розвиток променевої виразки у 60–70 % тварин з руйнуванням структури в усіх шарах шкіри. Спонтанне загоювання променевої виразки триває не менш двох місяців та не призводить до повноцінного відновлення шкіри. Фотомагнітна терапія, застосована одразу після опромінювання, вдвічі зменшувала частість виникнення променевих виразок, прискорювала на 3 тижні їх повноцінне загоювання, полегшувала їх перебіг. Гістологічне дослідження показало, що фотомагнітна терапія знижувала ступінь ушкодження усіх шарів шкіри, відновлювала структуру епідермісу та дерми, зменшувала ступінь запальних і деструктивних процесів в дермі.

Висновки. Фотомагнітна терапія справляє значний позитивний лікувальний ефект за рахунок значного зниження запальних і деструктивних процесів в усіх шарах шкіри, стимулює відновлення кровопостачання в ушкодженій тканині, проліферацію фібробластів і активацію синтезу повноцінних колагенових волокон та інших складових сполучної тканини, завдяки чому майже на місяць прискорює загоювання променевої виразки.

Ключові слова: локальне рентгенівське опромінення, місцеві променеві ушкодження, променеві виразки, фотомагнітна терапія, шкіра, щури.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 458–470.

L. I. Simonova-Pushkar, V. Z. Gertman, L. V. Bilogurova✉

State Institution "S.P. Grigoriev Institute for Medical Radiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Pushkins'ka str, 82, Kharkiv, 61024, Ukraine

Application of photo-magnetic therapy for treatment of skin radiation damage in rats

Objective: To improve methods of prevention and treatment of local radiation injury to the skin using the photo-magnetic therapy.

Materials and methods. Study was conducted on 60 male Wistar rats with 180–200 g bodyweight. The femoral area right hind limb of rats was locally irradiated by X-ray unit at a dose of 80.0 Gy. Exposed animals were divided into 2 groups: control and experimental. The rats of the experimental group received 2 courses of photo-magnetic therapy on the irradiated skin. The observations were carried out for 60 days.

Methods – clinical, histological and statistical.

✉ Білогурова Лариса Василівна, e-mail: patphisiol_imr@mail.ru

Results. Local irradiation of rat skin causes the development of radiation ulcers in 60–70 % of the animals with the destruction of the structure in all layers of the skin. Spontaneous healing of radiation ulcer lasts at least two months with no complete skin recovery. Photo-magnetic therapy applied immediately after irradiation resulted in two-fold-decrease of frequency of radiation ulcer incidence, accelerated the complete healing for 3 weeks and to ameliorated their progress. Histological examination showed that the photo-magnetic therapy reduced the extent of damage to all layers of the skin with restoration of epidermis and dermis structure and reduced the degree of inflammatory and destructive processes in the dermis.

Conclusions. Photo-magnetic therapy produces a significant positive treatment effect by significantly reducing the inflammatory and destructive processes in all layers of the skin, stimulates the blood flow recovery in damaged tissue both with fibroblast proliferation and synthesis activation of native collagen fibers and other components of connective tissue, so almost a month accelerates ulcer healing radiation.

Key words: local X-ray irradiation, local radiation injury, radiation ulcers, photo-magnetic therapy, skin, rats.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:458-470.

Одним із складових комплексного лікування злоякісних пухлин є променева терапія, часто з великими осередковими та інтегральними дозами. Застосування інтенсивних методів променевої терапії дозволяє значно збільшувати тривалість життя онкологічних хворих, але паралельно збільшується й ризик появи радіаційних ускладнень, які можуть виникати у різних органах і тканинах. Першим бар'єром на шляху іонізуючого випромінювання при променевій терапії є шкіра та підшкірна клітковина, тому ушкодження цих тканин зустрічається найчастіше. Місцеві променеві ушкодження (МПУ) шкіри можна віднести до найпоширеніших ускладнень променевого лікування.

За часом виникнення променеві ушкодження поділяються на ранні, тобто ті, що виникають в процесі лікування або відразу після нього, і пізні, які розвиваються через 3–6 місяців після завершення променевої терапії.

Найтяжчим видом променевих ушкоджень шкіри і м'яких тканин є променеві виразки. В даний час променеві виразки розвиваються найчастіше в пізні терміни після опромінення [1]. Взагалі, для променевих ушкоджень органів і тканин, у тому числі й променевих виразок шкіри, характерним є пригнічення репараційних процесів, їх млявий перебіг і мала ефективність лікувальних заходів [1–3]. Тому лікування променевих виразок є найбільш важкою проблемою з усіх видів лікування променевих ушкоджень шкіри.

У клінічній практиці запропоновано багато різних методів лікування та профілактики МПУ шкіри, однак жоден з них не є вичерпно ефективним.

В ДУ "Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України" традиційно проводяться роботи з розробки та удосконалення методів лікування МПУ, при цьому вивчається ефективність найсучасніших методів,

Radiotherapy, often with large focal and integral dose is one of the components of the complex treatment of malignant tumors. The use of intensive methods of radiation therapy can significantly prolong the life of cancer patients, but also simultaneously increases the risk of radiation complications that can occur in various organs and tissues. The first barrier to ionizing radiation during radiotherapy is the skin and subcutaneous tissue therefore radiation injury of skin occurs most frequently. Local radiation injury (LRI) of skin can be attributed to the most common complication of radiotherapy.

By the time of occurrence of radiation injury such lesions are classified into early ones that occur during the treatment or shortly thereafter, and later ones developing in 3–6 months after the completion of radiotherapy.

Radiation ulcers are the most severe type of radiation injury to the skin and soft tissues. Currently the radiation ulcers develop more often in the later stages after irradiation [1, 2]. Generally, the radiation injury to organs and tissues including the radiation skin ulcers is characteristic with depression of reparatory processes, their faded pattern and low effectiveness of medical interventions [1–3]. Therefore, treatment of radiation ulcers as a most difficult problem of all treatments of radiation injuries to the skin.

Many different methods of treatment and prevention of skin LRI are proposed in clinical practice, but none of them are thoroughly effective.

In S.P. Grigoriev Institute for Medical Radiology traditionally works on developing and improving of LRI treatment methods, and the effectiveness of modern methods including physical ones is under the study. Thus, the effec-

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

зокрема й фізичних. Так, було показано ефективність лазерної терапії МПУ в онкологічних хворих та в експерименті [4, 5]. Також встановлено ефективність сучасного фізичного методу фототерапії з використанням фотодіодних приладів для профілактики та лікування ранніх променевих ушкоджень шкіри [6, 7].

Водночас, серед сучасних фізичних перспективних методів знайшов широке застосування такий метод, як магнітна терапія. Показано, що в онкологічних хворих застосування магнітної терапії в післяопераційному періоді прискорює загоєння ран, сприяє поліпшенню тканинної мікроциркуляції, підсилюючи кровопостачання тканин, уповільнює процеси склерозування і фібротизації в уражених органах і тканинах [8, 9].

Доведені позитивні ефекти фотонної та магнітної терапії дозволили поєднати дію цих двох фізичних методів. Поєднана фотомагнітна терапія (ФМТ), переважно магніто-лазерна, вже успішно застосовується при лікуванні ряду неонкологічних захворювань [10, 11].

На жаль, можливості використання цього перспективного методу для лікування та профілактики місцевих променевих ушкоджень шкіри ще не вивчалися. Тому подібні дослідження можна вважати цілком актуальними.

МЕТА

Мета роботи – удосконалити методи профілактики та лікування місцевих променевих ушкоджень шкіри за допомогою фотомагнітної терапії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведені на 60 щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 180–200 г. При моделюванні місцевих променевих ушкоджень (МПУ) стегнову ділянку правої задньої кінцівки щурів піддавали локальному рентгенівському опроміненню у дозі 80,0 Гр.

Умови опромінення щурів були такі: локальне опромінення проводили на рентгенотерапевтичному апараті TUR-60, напруга на трубці U = 50 кВ, анодний струм I = 10 мА, фільтр 0,6 мм Al. Це відповідало ефективній енергії 18,0 кеВ. На вихідному вікні апарату впритул розташовували діафрагму зі свинцю з діаметром отвору 10 мм. На діафрагму встановлювали кільце з поліметилметакрилату з діаметром внутрішнього отвору 20 мм для усунення крайових ефектів на шкірі тварини, що опромінюється.

Піддослідні щури були розподілені на 2 групи:
1) контрольна група (30 тварин) – щури з локальним рентгенівським опроміненням стегнової ділянки в дозі 80,0 Гр ;

tiveness of laser therapy of LRI was shown in cancer patients and in experiment [4, 5]. Effectiveness of modern physical method using photodiode phototherapy devices for the prevention and treatment of early radiation damage to the skin was also established [6, 7].

In the meantime, such method as a magnetic therapy is widely used now among contemporary perspective physical methods. It is shown that in cancer patients the use of magnetic therapy in the postoperative period accelerates wound healing, improves tissue microcirculation with the increasing of blood flow to tissues, slows sclerosis and fibrosis in affected organs and tissues [8, 9].

Positive effects of photonic and magnetic therapy were proved allowing to combine the effect of these two physical methods. Combined photomagnetic therapy (PMT), mainly magnetic and laser, has been used successfully in the treatment of non-cancer disease [10, 11].

Unfortunately, the possibility to use this promising method for the treatment and prevention of local radiation injuries of the skin have not been studied yet. Therefore, such studies can be considered as quite relevant.

OBJECTIVE

To improve the methods of prevention and treatment of local radiation injury to the skin using the photo-magnetic therapy.

MATERIALS AND METHODS

Research conducted on 60 male Wistar rats with 180–200 g bodyweight. In the simulation of local radiation injury (LRI) The femoral area right hind limb of rats was locally exposed to X-ray irradiation at a local dose of 80.0 Gy.

Terms of rat exposure were the following: local irradiation was performed on X-unit TUR-60, the voltage on the tube U = 50 kV, anode current I = 10 mA, filter 0.6 mm Al. This is consistent with an efficient energy of 18.0 keV. The lead diaphragm with a hole of 10 mm diameter was placed close at the exit aperture of unit. The polymethylmethacrylat (PMMA) ring with an internal hole diameter 20 mm was attached to eliminate the edge effects on skin of irradiated animals.

The experimental rats were divided into 2 groups:
1) control group (30 animals) – rats with a local X-ray irradiation at a dose of 80.0 Gy on hip area;

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

2) дослідна група (30 тварин) – щури з локальним опроміненням стегнової ділянки та лікуванням методом ФМТ. Фотомагнітну дію на опромінену ділянку шкіри проводили двома курсами: 1 курс на 1–10-ту, другий – на 20–30-ту добу після локального опромінювання. Для ФМТ використовували фотомагнітні матриці "Барва-Флекс/Маг" (виробництво Харків), які складаються з фотодіодної матриці та магнітної насадки. В роботі використовували матриці з фотодіодами червоного (λ = 660–630 нм) та синього (λ = 470–440 нм) кольору. Магнітна насадка є пластиною, яка містить 24 кільцевих магніти з індукцією одного магніту 10 мТл; вона має 24 круглих отворів, які співпадають з 24 фотодіодами фотонної матриці.

Лікування тварин починали зразу після локального опромінювання і впродовж 10-денних курсів проводили сеанси ФМТ щоденно по 20 хвилин кожний, при цьому перші 5 днів використовували червоне світло, а далі – синє світло.

Усіх тварин утримували в однакових стандартних умовах (їжа і вода ad libitum). Умови утримання і поводження з тваринами відповідали вимогам "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" [12]. Усі процедури проводили під наркозом, також під наркозом та з дотриманням правил евтаназії виводили тварин з експерименту, відповідно до вимог [12] і методичних рекомендацій [13].

Результати спостережень за розвитком МПУ та станом тварин фіксували на 3, 7, 14, 21, 30, 45-ту та 60-ту добу. У ті ж строки проводили забір тканин для морфологічних досліджень.

Для морфологічного дослідження шматочки тканин фіксували у 10 % формаліні та після целоїдинової або парафінової проводки гістологічні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином та за методом Ван-Гізона [14].

Статистичну обробку результатів проводили на ПК за допомогою пакета програм STATISTICA з використанням параметричних та непараметричних методів. Порівняння груп з різною частотою клінічних ознак проводили з використанням критерію χ^2 (хі-квадрат) [15]. Аналіз альтернативних ознак виконували за [15] з використанням точного критерію Фішера. Розбіжності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Спостереження за розвитком МПУ показали (таблиця 1), що у локально опромінених щурів вже на 3-ю добу після опромінення з'являлися ознаки променевого

2) experimental group (30 animals) – rats with local radiation of hip area and PMT application. The photo-magnetic effect on the skin at the irradiated area was conducted in two courses: 1st at 1–10 day, and the 2nd – at 20–30 days after local irradiation. The photo-magnetic matrices "Barva-Flex/Mag" (production Kharkiv), consisting of a photodiode matrix and magnetic attachment were used for the PMT. In this work we have used a matrix of red (λ = 660–630 nm) and blue (λ = 470–440 nm) color photodiodes. Magnetic header is a plate containing 24 circular magnets with the induction of one magnet 10 mT; it has 24 round holes, which coincide with the 24 photon matrix photodiodes.

Treatment of animals started immediately after local irradiation and during the 10-day courses the PMT daily sessions were applied by 20 minutes each. In the first 5 days the red light was used, and then – the blue light.

All animals were kept under the same standard conditions (food and water ad libitum). Conditions of detention and treatment of animals corrsponded the requirements of "European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes" [12]. All procedures were applied under general anesthesia. Animals were removed from experiment also under anesthesia and following the euthanasia rules in accordance with the requirements [12] and guidelines [13].

Observations on the development of LRI and the state of animals were helf at 3rd, 7th, 14th, 21st, 30th, 45th and 60th days. At the same time the tissue sampling was conducted for the morphological study.

For morphological study the pieces of tissue were fixed in 10% formalin and after paraffin posting the histological sections were stained with hematoxylin-eosinum and by the method of Van Gieson [14].

Statistical analysis of the results was performed on a PC using the software package STATISTICA using parametric and nonparametric methods. Comparison of groups with varying frequency of clinical signs was performed using the criterion χ^2(chi-square) [15]. Analysis of alternative parameters was performed using the Fisher's exact test [15]. The difference was considered statistically significant at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Monitoring of LRI development showed that signs of radiation damage in the form of erythema (93 % of the rats), point hemorrhages (73 % of the

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

вого ушкодження у вигляді еритеми (93 % щурів), точкових крововиливів (73 % щурів), набряків шкіри та лущення (63 % щурів). Через тиждень (7 діб) після опромінення розвивався дерматит (рис. 1), причому майже у половини щурів (43 %) дерматит був вологий з виділенням ексудату, ще у 17 % тварин у цей термін спостерігалися перші ознаки виникнення променевих виразок. Через 2 тижні (14 діб) у більшості тварин (63 %) утворювалися променеві виразки (рис. 2), часто з гнійним виділенням, вкриті щільними та товстими кірками. Через 3 тижні променеві виразки були вже у 70 % тварин. Тільки на 45-ту добу ставали помітними ознаки загоювання, яке відбувалося дуже мляво і повільно (рис. 3). Грануляційна тканина, що з'являлася на місці виразки була тонкою, блідою, нещільною та непружною. Повна епітелізація променевих дефектів шкіри спостерігалася в середньому на 60–65-ту добу, також у ці строки поступово відновлювався неповноцінний шерстний покрив.

Застосування фотомагнітних матриць на зону опромінення шкіри значно зменшувало частість розвитку променевих реакцій шкіри у щурів, прискорювало їх загоєння, полегшувало перебіг ранового

rats), swelling and peeling skin (63 % of the rats) appeared at 3rd day after irradiation in locally irradiated rats (Table 1). One week (7 d) after irradiation a dermatitis developed (Fig. 1), and almost in a half of the rats (43 %) the dermatitis was wet with exudation, even in 17% of animals in this period there were the first signs of the emergence of radiation ulcers. After 2 weeks (14 d) the radiation ulcers eppeared in most animals (63 %) (Fig. 2), often with purulent compartment covered with dense and thick crusts. After 3 weeks there were radiation ulcers already in 70% of the animals. Only on the day 45 the signs of healing became visible, which was very sluggish and slow (Fig. 3). Granulation tissue, which appeared at the place of ulcer was thin, pale, loose and not elastic. Complete epithelialization of radiation skin defects was observed on average at days 60–65, as those terms the animal hair restored gradually.

Application photo-magnetic matrices on the area of skin exposure significantly reduced the frequency of development of radiation skin reactions in rats, accelerated their healing, facilitated the

Таблиця 1

Вплив фотомагнітної терапії на перебіг МПУ у експериментальних тварин при локальному опроміненні у дозі 80,0 Гр

Table 1

Effect of photo-magnetic therapy on LRI pattern in experimental animals after local 80 Gy irradiation

Група / Group	Ознака МПУ / LRI sign	Термін після опромінювання, д / time upon exposure (d)						
		3	7	14	21	30	45	60
Контрольна група з ЛО 80,0 Гр, n = 30 / Control group, 80 Gy LI, n = 3	Частота ПВ, % / RU incidence (%)	0	17,0 ± 7,0	63,0 ± 9,0	70,0 ± 9,0	63,0 ± 9,0	10,0 ± 6,0	0
	Площа МПУ, мм / LRD square (mm)	0	169,0 ± 28,9	265,0 ± 11,7	300,0 ± 32,5	196,0 ± 25,7	0	0
	Віддалені наслідки / remote sequelae:							
	➢ частота формування рубців, % / scarring incodence (%)	–	–	–	–	–	63,0 ± 9,0	43,0 ± 9,0
	➢ відновлення шерстного покриву, % / hair recovery (%)	–	–	–	–	3,0 ± 2,0	3,0 ± 3,0	7,0 ± 5,0
Дослідна група з ЛО 80,0 Гр та ФМТ, n = 30 / Study group, 80 Gy LI + PMT, n=30	Частота ПВ, % / RU incidence (%)	0	0	33,0 ± 9,0*	30,0 ± 9,0*	10,0 ± 6,0*	0	0
	Площа МПУ, мм / LRD square (mm)	0	120,1 ± 21,2	122,7 ±9,2*	49,3 ± 11,7*	26, 2 ± 17,4*	0	0
	Віддалені наслідки: / Remote sequelae:							
	➢ частота формування рубців, % / scarring incodence (%)	–	–	–	–	–	10,0 ± 6,0*	13,0 ± 6,0*
	➢ відновлення шерстного покриву, % / hair recovery (%)	–	–	3,0 ± 3,0	7,0 ± 5,0	23,0 ± 8,0*	50,0 ± 9,0*	60,0 ± 9,0*

Примітки. ЛО – локальне опромінення; ПВ – променева виразка; * – відмінності вірогідні відносно показників контрольної групи.
Notes. LI – local irradiation, RU – radiation ulcers, * – statistically reliable differences vs. the control group.

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

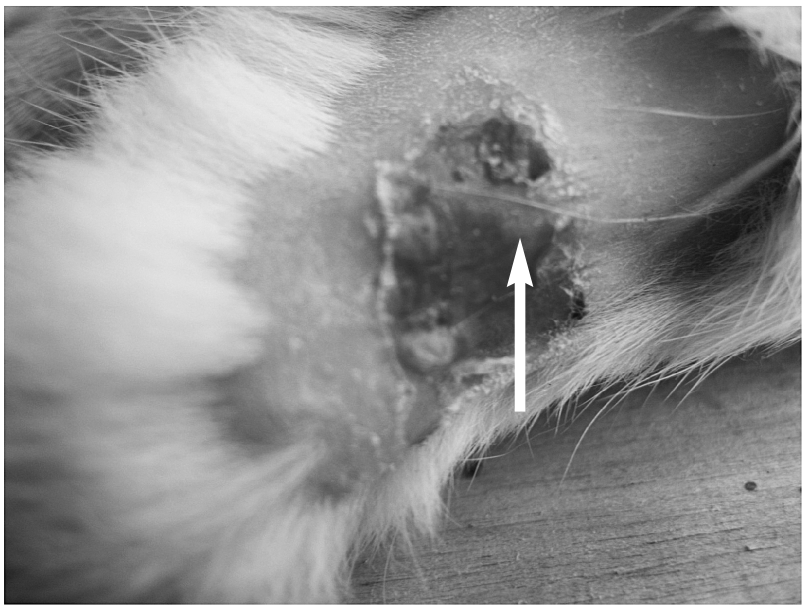

Рисунок 1. **МПУ шкіри щура на 7-му добу після радіаційного впливу.**
Ознаки вологого дерматиту в зоні локального опромінення.

Figure 1. **LRI of the rat skin at 7th days upon radiation impact.**
Signs of moist dermatitis in the zone of local irradiation.

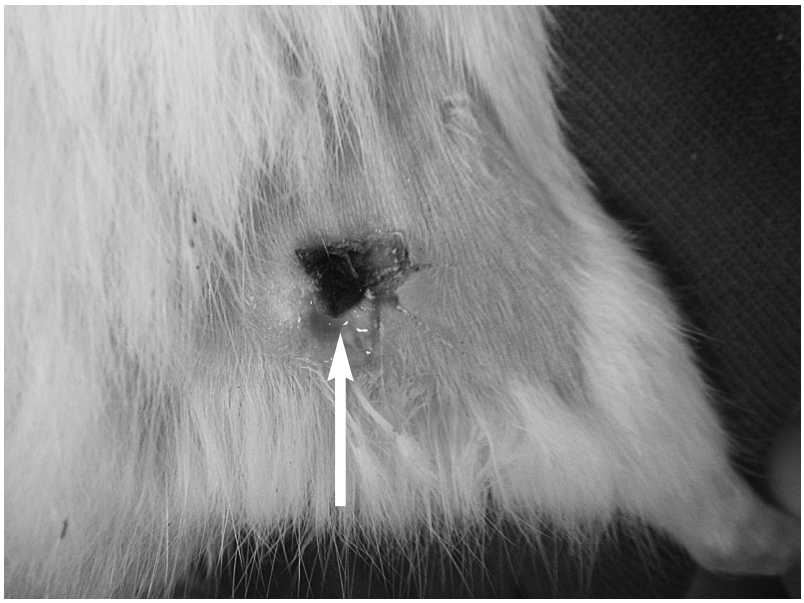

Рисунок 2. **МПУ шкіри щура на 14-ту добу після радіаційного впливу.**
Мокнуча кірка з серозним виділенням в зоні локального опромінення.

Figure 2. **LRI of the rat skin at 14th day upon radiation impact.**
Weeping scab with serous discharge in the area of local irradiation.

процесу (див. таблицю). Так, у тварин, лікованих ФМТ, у перші 3 доби еритеми виникали лише у 23 % щурів проти 93 % в контролі ($p < 0,05$), крововиливи та лущення шкіри також фіксували у вірогідно меншої кількості тварин (у 13 та 40 % відповідно). У щурів з ФМТ зовсім не розвивався вологий дерма-

progress of wound healing. Thus, in animals treated with PMT the erythema occurred in the first 3 days only in 23% of rats versus 93% in controls ($p < 0.05$), bleeding and peeling skin were recorded in significantly fewer animals (13 and 40%, respectively). In rats with PMT the moist dermatitis was

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

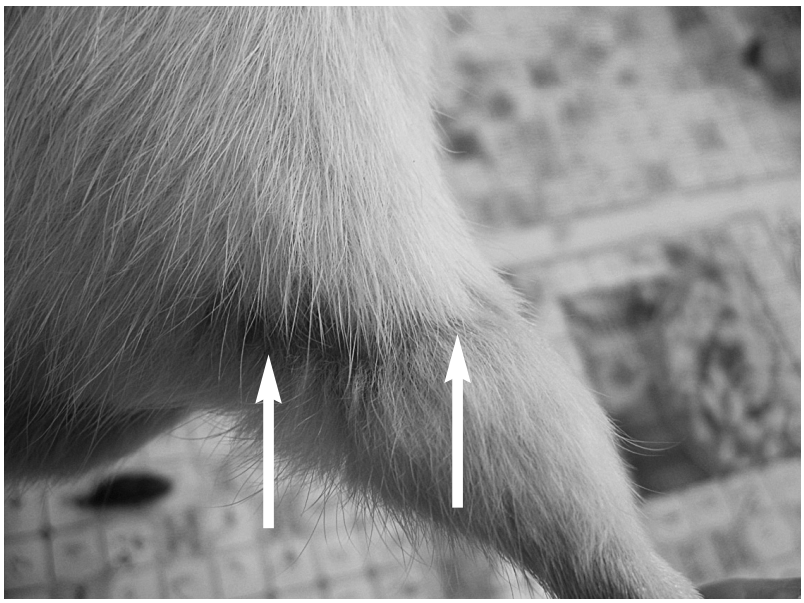

Рисунок 3. Вигляд шкіри щура на 60-ту добу після радіаційного впливу.
Пізні рубцеві зміни в зоні локального опромінення.

Figure 3. Rat skin appearance at 60th day upon radiation impact.
Late scarring in the zone of local irradiation.

Рисунок 4. Вигляд шкіри щура на 60-ту добу після радіаційного впливу при застосуванні ФМТ.

Figure 4. Rat skin appearance at 60th day upon radiation impact in case of FMT application.

тит, а частість розвитку сухого дерматиту була значно меншою. На 14-ту добу спостереження лише у 33 % тварин цієї групи фіксували виникнення променевих виразок, тоді як у нелікованих групах променеві виразки розвивалися у 63 % піддослідних тварин ($p < 0,05$).

Регенераторна фаза у щурів з ФМТ починалася вже на 21-шу добу, тоді як у контрольній групі лише до

not developed at all, and frequency of development of dry dermatitis was significantly lower. After 14 days of observation the occurrence of radiation ulcers was only in 33% of the animals in this group, while in untreated rats the radiation ulcers developed in 63% of cases ($p < 0.05$).

Regeneration phase in rats with PMT began already at 21st day, whereas in the control group the

45-ї доби розвивались візуально помітні ознаки регенерації. Тобто, переважання регенераторних процесів над запальними в лікованій групі починалося приблизно на 3 тижні раніше. Наприкінці першого місяця досліджень у лікованій групі поверхня променевої виразки повністю очищувалася, з'являвся епітеліальний покрив.

Повне загоєння рани з повноцінною епітелізацією відзначалося на 2 тижні раніше, ніж у контролі (рис. 4), причому частість ознак віддалених наслідків опромінення шкіри (рубці, ділянки гіперпігментації, стоншення шкіри, легке лущення) знижалася у декілька разів. Це зниження у декілька разів макроскопічних ознак розвитку віддалених променевих ушкоджень шкіри можна вважати одним з важливих позитивних ефектів ФМТ.

Таким чином, застосування ФМТ сприяло зменшенню кількості променевих дефектів шкіри у піддослідних тварин, скороченню термінів їх загоювання, полегшенню перебігу тих променевих виразок, які все ж виникали. Клінічні спостереження за перебігом МПУ дають підставу вважати, що фотомагнітна терапія справляла значну лікувальну та профілактичну дію на патологічні процеси в опроміненій шкірі.

Це припущення було підтверджено даними гістологічного дослідження.

У щурів контрольної групи мікроскопічні зміни в шкірних біоптатах виявлялися вже через добу після опромінення у вигляді різкого повнокрів'я судин і стазу. На 3-ю добу починалося стоншування і деструкція епідермісу. До 14-ї доби спостереження повністю формувалася шкірна променева виразка, вкрита на поверхні гнійно-некротичною скоринкою. Шкіра була повністю позбавлена придатків. Під некротичною скоринкою у тварин виявлявся некроз дерми, гіподерми і м'язової тканини.

У вогнищі некрозу виявляли запальний інфільтрат з помірною лейкоцитарною імбібіцією осередку ураження. Поряд з некротичною ділянкою в дермі і гіподермі спостерігалися осередки набряку і лімфоїдної інфільтрації. На місці загиблої м'язової тканини з'являлася новоутворена сполучна тканина, колагенові волокна якої були дезорганізовані та втрачали фібрилярну структуру.

До 30-ї доби на шкірі все ще зберігалася променева виразка, але її розміри вже скорочувалися за рахунок крайової епітелізації. На місці загиблої тканини дерми посилювалася фібробластична реакція (рис. 5).

На 60-ї доби після локального опромінення виразкова поверхня на шкірі повністю епітелізувалась (рис. 6). Однак, в опроміненій ділянці шкіри виявля-

visually noticeable signs of regeneration evolved at only 45th day. That is, the prevalence of regenerative processes over inflammation in the treated group started about 3 weeks earlier. At the end of the first month of research in the treated group the surface of radiation ulcers was cleaning completely with appearing epithelial cover.

Complete wound healing with complete epithelialization was observed 2 weeks earlier than in control (Fig. 4), and frequency of signs of long-term effects of exposure of the skin (scars, areas of hyperpigmentation, thinning skin, easy peeling) decreased in several times. This reduction in the number of times of macroscopic features of remote radiation injury to the skin can be considered one of the important positive effects PMT.

Thus, the application of PMT promoted the reduced number of radiation defects in the skin of experimental animals, reduced duration of their healing, ameliorated the course of radiation ulcers if any still appeared. Clinical observation of LRI suggest that the photo-magnetic therapy had made a significant therapeutic and preventive effect on pathological processes in irradiated skin.

This assumption was confirmed by histological examination.

Microscopic changes in skin biopsies were detected in rats of the control group in one day after irradiation as sharp plethora and vascular stasis. On the 3rd day the thinning and destruction of the epidermis started. By 14th day of observation the fully formed rdiation skin ulcer was formed being covered by purulent-necrotic crust on the surface. The skin was completely devoid of appendages. There was a necrosis of dermis, hypodermis and muscle tissue under the necrotic crust.

The inflammatory infiltrate with moderate leukocyte imbibition of lesion focus was revealed in the area of necrosis. Foci of edema and lymphoid infiltration were observed along with the necrotic area in the dermis and hypodermis. A newly formed connective tissue with collagen fibers being disorganized with a lost fibrillary structure appeared in the place of necrotic muscle tissue.

By 30th day the radiation ulcer still remained, but its dimensions were reduced by the boundary of epithelialization. In a place of the dead dermis tissue the fibroblastic reaction intensified (Fig. 5).

Sixty days after local radiation the ulcer surface on the skin had completely epithelializated (Fig. 6). However, only the isolated hair follicles and seba-

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

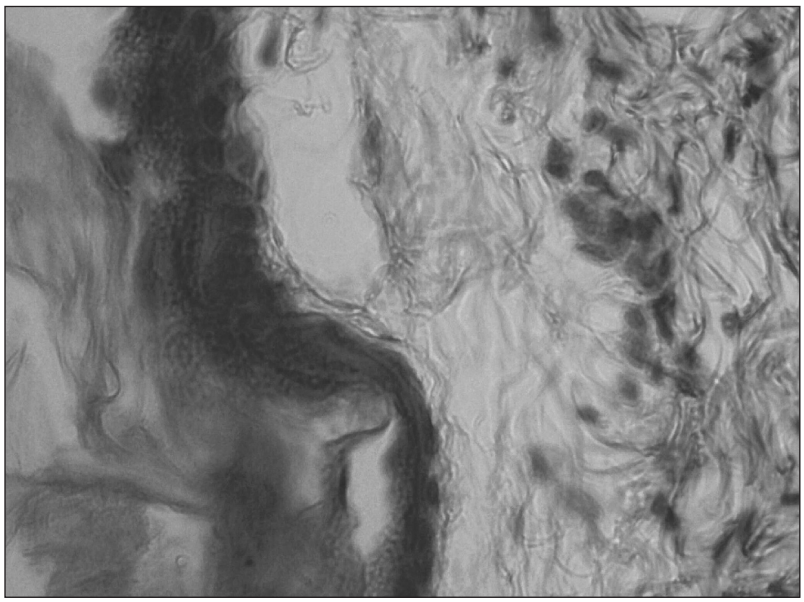

Рисунок 5. Шкіра щура контрольної групи на 21-шу добу.
Вогнище лізису колагену у сосочковому шарі дерми. ШІК-реакція, ×400.

Figure 5. Rat skin in the control group of animals at 21st day.
Area of lysis of collagen in the papillary layer of the derma. PAS, ×400.

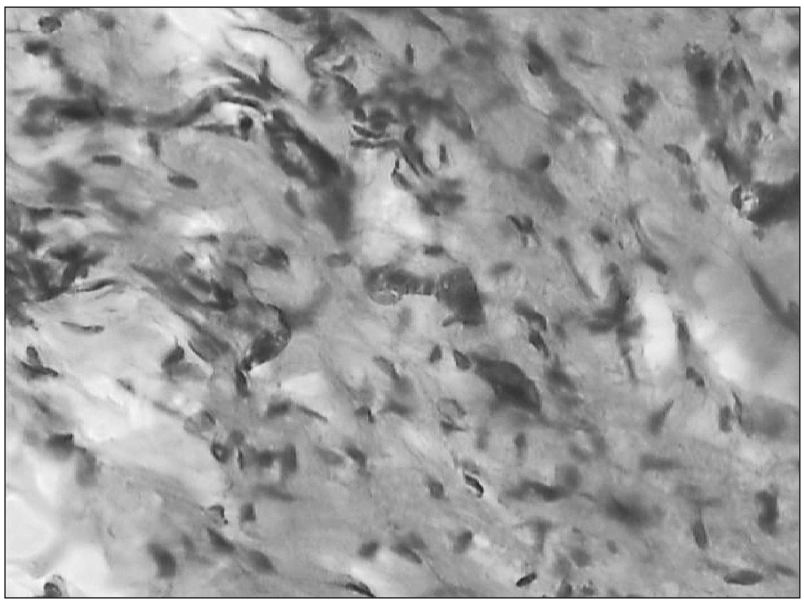

Рисунок 6. Шкіра щура контрольної групи на 60-ту добу.
У всіх шарах шкіри і гіподермі виражені склеротичні зміни з розмитими широкими, гомогенізованими колагеновими волокнами. Забарвлення гематоксилін-еозином, ×320.

Figure 6. Rat skin in the control group of animals at 60th day.
Pronounced sclerotic changes with diffuse broad homogenized collagen fibers in all layers of the skin and hypoderm. Staining with hematoxylin-eosin, ×320.

лися тільки поодинокі волосяні фолікули й сальні залози. У поверхневих шарах дерми колагенові волокна були ущільнені, частково дезорієнтовані.

У тварин дослідної групи, які отримували лікування ФМТ, картина була інша (рис. 4). У перший тиж-

ceous glands were revealed in the irradiated skin area. In the superficial layers of dermis the collagen fibers were sealed, partially disoriented.

In the experimental group of animals treated with PMT the picture was different (Fig. 4). In the first

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

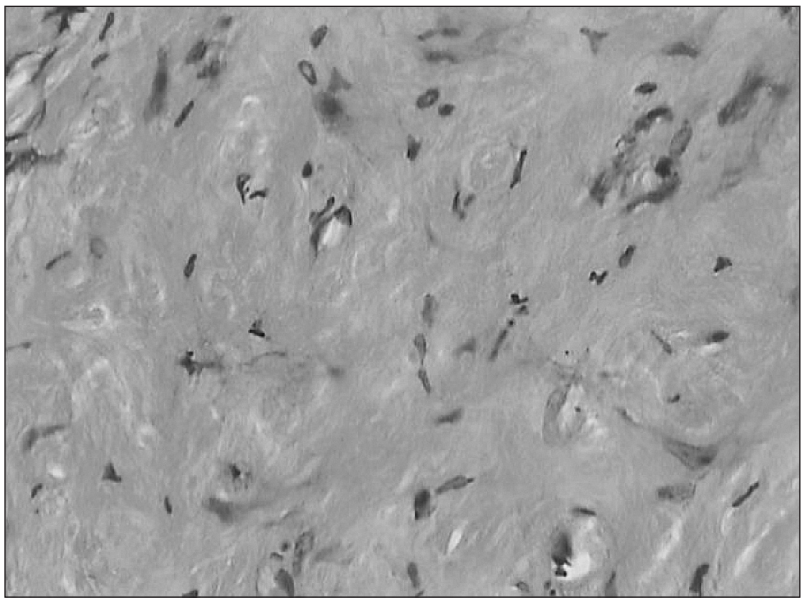

Рисунок 7. Шкіра щура з групи ФМТ на 21-шу добу.

Активна фібробластична реакція у новоствореній молодій сполучній тканини. Колагенові волокна невеликої товщини, з'явилася пучкова спрямованість і фібрилярна структура. Опасисті клітини без грануляції, нечисленні з невеликою кількістю гранул. Забарвлення гематоксилін-еозином, ×320.

Figure 7. Rat skin of animal from group of PMT application at 21st day.

Active fibroblastic reaction in neoformed young connective tissue. Collagen fibers of small thickness, fascicular focus and fibrillar structure appeared. Mast cells without granulation, a few with little granules. Staining with hematoxylin-eosin, ×320.

день зміни в ділянці опроміненій шкіри були майже аналогічні таким в контрольній групі. Але вже на 7-му добу після локального опромінення шкіри і ФМТ поряд з розвитком альтеративних процесів у всіх шарах опроміненої ділянки шкіри виявляли ознаки репаративних процесів у сполучній тканині. Хоча до 14-ї доби ще продовжувався розвиток деструктивних, аж до некротичних процесів, в глибині м'яких тканин, особливо в м'язовій тканині, некротичні маси практично утилізувалися, за винятком окремих ділянок, збільшувалася кількість капілярів у дермі.

У наступні терміни (21 доба) відбувалася активізація репаративних процесів, найбільш виражена в глибоких шарах дерми і в частці м'язової тканини, про що свідчило збільшення кількості капілярів і фібробластів з формуванням грануляційної тканини (рис. 7). У віддалені терміни спостереження (30–60 діб) у лікованих групах спостерігалися виражені процеси регенерації тканин.

На 60-ту добу після локального опромінення і ФМТ у лікованих тварин фіксували повну епітелізацію променевої виразки, при цьому у підлеглих тканинах реєструвалася майже завершена організація травмованої м'язової тканини (рис. 8).

Таким чином, проведене дослідження показало, що фотомагнітна терапія справляла значний позитивний

week the changes in area of irradiated skin were almost similar to such in the control group. But at 7th day after local irradiation of the skin and PMT the signs of reparative processes in the connective tissue along with the development of alternative processes were revealed in all layers of the irradiated skin. Despite destructive even to necrotic processes in the deep soft tissues, especially muscle tissue up th 14th day the necrotic masses had been almost resorbed, except for some areas, with an increased number of capillaries in the dermis.

In subsequent periods (21st day) there was an activation of reparative processes being most pronounced in deep layers of the dermis and in the proportion of muscle tissue, as evidenced by an increase in the number of capillaries and fibroblasts with the formation of granulation tissue (Fig. 7). In the long term follow-up (30–60 days) the pronounced regeneration of tissues was observed in the treated groups.

Sixty days after local irradiation and PMT a complete epithelialization of radiation ulcers was registered in treated animals. At that there was almost finished organization of injured muscle tissue in the underlying tissues (Fig. 8).

Thus, studies have shown that photo-magnetic therapy provided a significant positive treatment

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

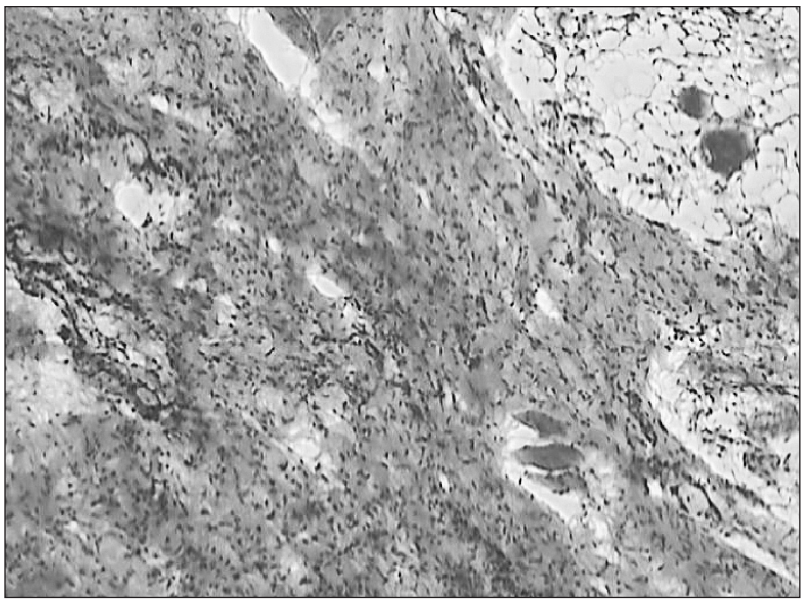

Рисунок 8. Шкіра щура з групи ФМТ на 60-ту добу.

Дерма представлена дозріваючою молодою сполучною тканиною з нормальною кількістю клітинних елементів і нормальною структурою колагенових волокон. У гіподермі ознаки фіброзу та запалення відсутні. Забарвлення гематоксилін-еозином. Забарвлення гематоксилін-еозином, ×320.

Figure 8. Rat skin of animal from group of PMT application at 60th day.

Dermis is represented with maturing young connective tissue with normal amount of cellular elements and the normal structure of collagen fibers. No signs of fibrosis and inflammation in hypoderma. Staining with hematoxylin-eosin, ×320.

лікувальний ефект – зменшувала частість розвитку тяжких променевих ушкоджень шкіри (променевих виразок), знижувала ступінь ушкодження всіх шарів шкіри, відновлювала структуру епідермісу та дерми, скорочувала на 3 тижні загоювання променевого ушкодження шкіри, зменшувала ступінь запальних і деструктивних процесів в дермі, сприяла відновленню кількості та структури судин з покращенням мікроциркуляції, забезпечувала утворення фібробластів і синтез повноцінних колагенових волокон.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що локальне рентгенівське опромінення стегнової ділянки шкіри щурів впродовж 2–3 тижнів призводить до розвитку шкірної променевої виразки у більшості щурів з руйнуванням епідермісу та шкірних придатків, стійкими осередками запалення та некрозу в усіх шарах шкіри. Спонтанне загоювання променевої виразки триває не менше двох місяців та не призводить до формування повноцінного шкірного та шерстного покриву у опромінених щурів.
2. Фотомагнітна терапія справляє значний позитивний лікувальний ефект за рахунок значного зниження запальних і деструктивних процесів в усіх шарах шкіри, стимулює відновлення кровопостачання в ушкодженій тканині, проліферацію фібробластів і

effect – reduced the frequency of severe radiation injuries of the skin (radiation ulcers), reduced the extent of damage to all layers of the skin, restored the structure of the epidermis and dermis, reduced for 3 weeks the time of healing of skin radiation injury, reduced the degree of inflammatory and destructive processes in the dermis, helped to restore the number and structure of blood vessels with microcirculation improvement, provided the formation of fibroblasts and synthesis of native collagen fibers.

CONCLUSIONS

1. It was established that the local X-irradiation of rat femoral skin leads within 2–3 weeks to the development of skin radiation ulcers in the most of animals with destruction of the epidermis and cutaneous appendages, steady inflammation and necrosis in all layers of the skin. Spontaneous healing of radiation ulcer lasts at least for two months and does not form a wholesome skin and hair in irradiated rats.
2. The photo-magnetic therapy produces significant positive treatment effect by significantly reducing the inflammatory and destructive processes in all layers of the skin, stimulating the blood flow recovery in the damaged tissue, fibrob-

активацію синтезу повноцінних колагенових волокон та інших складових сполучної тканини, завдяки чому значно прискорюється загоювання променевого дефекту, про що свідчить як макроскопічна, так і мікроскопічна картина опроміненої ділянки шкіри.

3. На підставі отриманих експериментальних даних можна вважати, що ФМТ є корисним методом супроводу променевої терапії для профілактики та лікування місцевих променевих ушкоджень шкіри у онкологічних хворих.

last proliferation and synthesis activation of native collagen fibers and other components of connective tissue, thus greatly accelerates healing of radiation defect. It is evident from macroscopic and microscopic picture of the irradiated skin.

3. Based on these experimental data, we can assume that PMT is a useful method of support in radiation therapy for the prevention and treatment of local radiation injury to the skin in cancer patients.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бардычев М. С. Лечение местных лучевых повреждений / М. С. Бардычев // Лечащий врач. – 2003. – № 5. – С. 76–79.

2. Барабанова А. В. Местные лучевые поражения кожи / А. В. Барабанова // Мед. радиология и радиац. безопасность. – 2010. – Т. 55, № 5. – С. 79–84.

3. Галстян И. А. Острые лучевые поражения как осложнения медицинского облучения / И. А. Галстян, И. М. Надежина // Мед. радиология и радиац. безопасность. – 2012. – Т. 57, № 5. – С. 31–37.

4. Мороз В. А. Комплексне використання лазерного випромінення в терапії місцевих променевих уражень : методичні рекомендації / Укл. : В. А. Мороз; Харківський НДІ мед. радіології ім. С. П. Григор'єва МОЗ України. – Харків : [б. в.], 1998. – 13 с.

5. Первый опыт применения импульсной лазеротерапии в сочетании с аппликационной сорбцией при лечении послеоперационных осложнений у онкологических больных / Л. И. Симонова, А. А. Крапивный, А. А. Михановский, Л. В. Белогурова // Применение лазеров в медицине и биологии : матер. IX Междунар. научн.-практ. конф., 2–5 октября 1997 г., г. Ялта. – Харьков : [б. и.], 1997. – С. 37–38.

6. Сімонова Л. І. Вивчення в експерименті дії монохроматичного оптичного випромінювання на розвиток місцевих променевих ушкоджень шкіри. Повідомлення І. Перебіг місцевих променевих ушкоджень шкіри у щурів / Л. І. Сімонова, Л. В. Білогурова, В. З. Гертман // Укр. радіол. журн. – 2009. – Т. XVII, вип. 2.- С. 211–217.

7. Досвід застосування фототерапії для профілактики ранніх променевих реакцій шкіри у хворих на рак грудної залози / Л. І. Сімонова, Г. В. Кулініч, В. З. Гертман [та ін.] // Укр. радіол. журн. – 2010. – Т. XVIII, вип. 2. – С. 204–207.

8. Рыбаков Ю. Л. Магнитные поля в экспериментальной и клинической онкологии / Ю. Л. Рыбаков // Мед. физика – 2002. – № 4. – С. 66-83.

9. Комплексное лечение местно-распространенного рака почки / С. А. Варламов, Я. Н. Шойхет, Н. М. Пустошилова, А. Ф. Лазарев // Онкоурология. – 2007. – № 1. – С. 25–29.

10. Static magnetic field therapy: a critical review of treatment parameters / A. P. Colbert, H. Wahbeh, N. Harling [et al.] // Evid. Based Complement Alternat Med. – 2009. – Vol. 6, No. 2. – P. 133–139.

11. Латышева М. Н. Применение магнитолазерной терапии в лечении больных с остеоартрозом / М. Н. Латышева, В. М. Усков // Применение лазеров в медицине и биологии : матер. XXXVII междунар. научн.-

REFERENCES

1. Bardychev MS. [Treatment of local radiation injuries]. Lechashchii vrach. 2003 May;(5):76-9. Russian.

2. Barabanova AV. [Local radiation skin lesions]. Meditsinskaia radiologiia i radiatsionnaia bezopasnost. 2010 May;55(5):79-84. Russian.

3. Galstyan IA. [Acute radiation damages as a complication of medical exposure]. Meditsinskaia radiologiia i radiatsionnaia bezopasnost. 2012 May;57(5):31-7. Russian.

4. Moroz VA, Kharkivs'kyj NDI medychnoi' radiologii' im. S.P. Grygor'jeva MOZ Ukraiiny. [Complex using of laser radiation in the treatment of local radiation injuries: guidelines]. – Kharkiv: [publisher unknown]; 1998. – 13 p. Ukrainian.

5. Simonova LI, Krapivnij AA, Mikhanovskiy AA, Belogurova LV. [First experience with pulsed lasertherapy in combination with application sorption in the treatment of postoperative complications in patients with cancer]. In: The use of lasers in medicine and biology. Proceedings of IX International science-practical conference; 1997 October 2-5; Yalta-Kharkiv, Ukraine. Kharkiv: [publisher unknown]; 1997. p. 37-8. Russian.

6. Simonova LI, Bilohurova LV, Hertman VZ. [Experiment study of monochromatic beam action on the development of local radiation damage to the skin. Message I. The course of local radiation damage to the skin of rats]. Ukrains'kyi radiologichnyi zhurnal. 2009;17(2):211-7. Ukrainian.

7. Simonova LI, Kulinich GV, Hertman VZ, Bilohurova LV, Puchkar SM. [Experience with phototherapy for prevention of early radiation skin reactions in patients with breast cancer]. Ukrains'kyi radiologichnyi zhurnal. 2010;18(2):204-7. Ukrainian.

8. Rybakov YL. [Magnetic fields in experimental and clinical oncology]. Meditsinskaia fizika. 2002 Sept-Oct;(4):66-83. Russian.

9. Varlamov SA, Shoikhet YN, Pustoshilova NM, Lazarev AF. [Complex treatment of locally advanced kidney cancer]. Onkourologija. 2007 Jan;(1):25-9. Russian.

10. Colbert AP1, Wahbeh H, Harling N, Connelly E, Schiffke HC, Forsten C, et al. Static magnetic field therapy: a critical review of treatment parameters. Evid Based Complement Alternat Med. 2009 Jun;6(2):133-9.

11. Latysheva MN, Uskov VM. [Application of magneto-laser therapy in the treatment of patients with osteoarthritis]. In: The use of

ISSN 2304-8336. Проблеми радіаційної медицини та радіобіології = Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014. Вип. 19.

практ. конф., 23–25 мая 2012 г., г. Харьков. – Харьков : [б. и.], 2012. – С. 32–33.

12. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, No 123. – Strasbourg : Council of Europe, 1986. – 53 p.

13. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах : метод. рекомендації / укл. О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісник фармакології та фармакопеї. – 2006. – № 7. – С. 47–60.

14. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника : руководство / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – М. : Медицина, 1991. – 544 с.

15. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

lasers in medicine and biology. Proceeding of XXVII International science-practical conference; 2012 May 23-25; Kharkiv, Ukraine. Kharkiv: [publisher unknown]; 2012. p. 32-3. Russian.

12. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, No 123. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 53 p.

13. Reznikov OG, Soloviev AI, Dobrelya NV, Stefanov AV. [Bioethical expertise preclinical and other research performed on animals: guidelines]. Visnyk farmakolohii ta farmakopei. 2006;(7):47-60. Ukrainian.

14. Sarkisov DS. Petrov JL, editors. [Microscopic technique: a guide]. Moskva: Meditsina; 1991. 544 p. Russian.

15. Glantz S. [Biomedical Statistics]. Moskva: Praktika; 1999. 459 p. Russian.

Стаття надійшла до редакції 11.08.2014 *Received: 11.08.2014*