

**Е.М. Климова¹, А.М. Коробов²,
Ю.В. Иванова¹, Е.В. Лавинская¹, Е.А. Быченко¹**

¹ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков, Украина

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИМИ РАНАМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА ПОСЛЕ СВЕТОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Введение. Актуальным является применение светового воздействия различных диапазонов для усиления местных регенеративных процессов при гнойных ранах на фоне сахарного диабета, так как стандартные схемы антибиотикотерапии не всегда эффективны и требуют длительного применения. Механизмы адаптогенеза, активизирующиеся на фоне светового воздействия с использованием фотосенсибилизатора оказывают существенное влияние на процессы клеточного и гуморального иммунитета.

Целью работы было изучение иммунокорректирующих эффектов фототерапии различных длин волн излучения (470 нм, 530 нм, 630 нм) с применением фотосенсибилизатора в комплексном лечении гнойных ран на фоне сахарного диабета.

Материалы и методы. Группы обследованных пациентов с гнойными ранами на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа были сформированы в соответствии с проводимым лечением. В основную группу были включены пациенты с гнойно-септическими ранами нижних конечностей, которым проводили фототерапию с применением фотосенсибилизатора Димегин, а в группу сравнения были включены пациенты с гнойно-септическими ранами нижних конечностей, которым проводили стандартную антимикробную схему лечения без фототерапии. Облучение зоны патологии проводили фотонными матрицами Коробова А.-Коробова В. серии «Барва».

Пациентам с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне сахарного диабета II типа проводили определение С-пептида и гликозилированного гемоглобина HbA1c. На модели *in vitro* определяли кислороднезависимый и кислородзависимый (НСТ-тест) фагоцитоз, степень лимфоцитотоксичности в тесте Тerasаки, концентрацию циркулирующих иммунных комплексов и пептидов средней молекулярной массы.

Результаты исследований. У пациентов с гнойными ранами на фоне сахарного диабета отмечали тенденцию к снижению гликозилированного гемоглобина более выраженную в группе пациентов, которым проводили фототерапию, чем в группе пациентов с применением стандартных схем лечения. Концентрация С-пептида более выражено возростала в группе пациентов с применением фототерапии.

Концентрация пептидов средней молекулярной массы снижались после курса фототерапии у пациентов основной группы в среднем в 1,9 раза относительно исходного уровня по сравнению с пациентами, которым не проводили фототерапию.

Выводы. Комбинированное световое воздействие с применением фотосенсибилизатора димегин на раны излучением светодиодов с длинами волн 470 нм, 530 нм, 630 нм стимулирует и регулирует функциональное состояние всех фагоцитирующих клеток, что проявляется в активации хемотаксиса и эндоцитоза нейтрофилов. Регулярное световое воздействие вызывало уменьшение концентрации патогенных циркулирующих иммунных комплексов за счет снижения антигенного груза и увеличения активности гидролитических ферментов, стимулирующих вывод циркулирующих иммунных комплексов из организма. Таким образом, световое воздействие нормализовало молекулярные механизмы, отвечающие за иммунореактивность и иммунорезистентность.

Ключевые слова: фототерапия, фотосенсибилизатор, гнойные раны, иммунорезистентность, иммунореактивность.

Введение и цель работы

В лечении гнойно-септических осложнений используют различные комбинированные подходы, включая воздействие электромагнитным, в том числе световым излучением. Так как стандартные схемы антибиотикотерапии гнойно-септических ран не всегда эффективны и требуют длительного применения, то дополнительно к ним применяют светолечение, усиливающее индукцию или ингибирование метаболических процессов [1, 6].

Как известно, воздействие светом может существенно влиять на пластический и энергетический метаболизм организма, восстанавливать утраченный иммуногенетический контроль за счет различных механизмов адаптогенеза [2, 4]. Восстановление иммунного ответа происходит при этом за счет нормализации процессов иммунитета (фагоцитоза, восстановления функции белков системы комплемента и показателей адаптивного гуморального и клеточного иммунитета) [5].

Представляет практический и теоретический интерес изучение влияния светового воздействия (фототерапии) и фотосенсибилизатора на организм пациентов с ишемией нижних конечностей и гнойными ранами на фоне сахарного диабета.

Клиническому испытанию данного метода лечения предшествовала проведенная нами серия экспериментов на животных ($n = 284$) с индуцированной моделью перитонита, где изучался эффект светового воздействия в различных диапазонах длин волн. В этих исследованиях были определены оптимальные временные интервалы и интенсивность светового воздействия; проверено иммунотропное действие света с разной длиной волны на различных стадиях воспалительного процесса, включая ингибирование контаминации, снижение образования экссудата и стимуляцию регенеративных процессов.

На модели *in vitro* оценивали поглотительную и окислительную способность фагоцитирующих нейтрофилов, для чего исследовали адгезию и эндоцитоз микробного агента (*Saccharomyces cerevisiae*) нейтрофильными гранулоцитами крови.

Целью настоящего исследования было выявление иммунокорректирующих эффектов светодиодного излучения с различными длинами волн (470 нм, 530 нм, 630 нм) и фотосенсибилизатора димегин в комплексном лечении гнойных ран у больных с сахарным диабетом.

Материалы и методы

В клиническую часть исследования были включены три группы участников. Контрольную группу составили практически здоровые доноры ($n = 15$). В основную группу ($n = 11$) были включены пациенты с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного тече-

ния сахарного диабета II типа, которым проводили фототерапию с применением фотосенсибилизатора димегин. Группу сравнения составили пациенты с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа, получавшие стандартное антимикробное лечение без фототерапии ($n = 10$).

Перед фототерапией димегин в количестве 15 мг разводили в 10 мл физиологического раствора, после чего полученный раствор наносили на раневую поверхность. Через 20 минут фотосенсибилизатор удаляли ватным тампоном и проводили направленное на рану световое воздействие с различными длинами волн — 470 нм (синий свет), 530 нм (зеленый свет), 630 нм (красный свет). Фототерапия выполнялась ежедневно в течение 20 минут одним из трех цветов по схеме: зеленый свет — в 1–3-и сутки, красный свет — в 4–11-е сутки, синий свет — в 12–16-е сутки.

Облучение зоны патологии проводили фотонными (светодиодными) матрицами Коробова А.-Коробова В. «Барва-Флекс/24ФМ», излучающими в зеленой (530 нм) области спектра, попадающей во вторую полосу поглощения димегина. Интегральная мощность излучения 24 светодиодов составляла 120 мВт, плотность мощности на облучаемой поверхности — 2,5 мВт/см².

Комплексное антимикробное воздействие света и фотосенсибилизатора усиливается, если молекулы последнего прикрепляются к мембране бактерий, проявляя эффект, схожий с процессом взаимодействия фагоцитов и микробного антигена. А последующее облучение светом с длиной волны, соответствующей пику поглощения фотосенсибилизатора, стимулирует образование атомарного кислорода, способствующего уничтожению микробиологических объектов.

В ходе лечения больных с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа производили микробиологическое исследование, определяя грамположительные стрептококковые и стафилококковые штаммы ($5,6 \times 10^6$ КОЕ/мл). Кроме того, определяли содержание в периферической крови С-пептида и гликозилированного гемоглобина HbA1c.

Материал для исследований получали из цельной крови пациентов, обработанной антикоагулянтом (гепарин в концентрации 134 ед. на 1 мл крови). Для оценки адгезии смешивали в равных количествах цельную гепаринизированную кровь и взвесь клеток *Saccharomyces cerevisiae* в концентрации 1% и инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Затем готовили мазки, содержащие нейтрофильные гранулоциты, фиксировали их этиловым спиртом 96% и окрашивали по Романовскому-Гимза. Проводили подсчет 200 клеток на световом микроскопе (окуляр $\times 10$, объектив $\times 90$),

учитывая нейтрофилы, поглотившие и не поглотившие клетки дрожжей, и среднее количество дрожжевых клеток в нейтрофилах. В результате определяли фагоцитарный индекс (ФИ) (количество нейтрофильных гранулоцитов, участвовавших в процессе фагоцитоза, в процентах от общего количества нейтрофильных гранулоцитов крови) и фагоцитарное число (ФЧ — как среднее количество клеток *Saccharomyces cerevisiae*, поглощенных одним нейтрофильным гранулоцитом, выражаемое в условных единицах). Для оценки интенсивности эндоцитоза инкубацию второй аналогичной пробы крови и *Saccharomyces cerevisiae* проводили в течение 120 минут при 37°C, после чего рассчитывали индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) по отношению фагоцитарного числа через 30 минут к фагоцитарному числу через 120 минут, определяя таким образом переваривающую способность нейтрофильных гранулоцитов в различные временные интервалы [8].

Окислительную способность ферментов нейтрофилов и их кислородозависимый метаболизм оценивали по способности нейтрофилов поглощать краситель нитросиний тетразолий (НСТ) и восстанавливать его до диформаза под влиянием супероксиданиона, который образуется в НАДФ-Н-оксидазной реакции, инициирующей процесс стимуляции фагоцитоза. С помощью световой микроскопии отмечали отложение сине-фиолетовых гранул диформаза в фагоцитирующей клетке, что соответствует локализации НАДФ-Н-оксидазы. Степень антигенной активности неактивированных нейтрофилов рассчитывали путем вычисления процента положительных клеток, спонтанно поглотивших НСТ, и поглотивших краситель после стимуляции зимозаном. Рассчитывали индекс стимуляции (ИС) как отношение числа поглотивших краситель клеток в спонтанном тесте к количеству поглотивших краситель клеток в стимулированном зимозаном НСТ-тесте [9].

Определение аутоиммунных антител в лимфоцитотоксическом тесте проводили по модифицированному методу Тerasaki. Реакция осуществлялась с использованием выделенных в градиенте плотности фиколл-верографин (плотность 1,077) лимфоцитов периферической крови и сыворотки крови одного и того же обследуемого человека с добавлением к инкубируемой взвеси кроличьего комплемента. Оценка реакции проводилась на световом микроскопе через 18 часов после окрашивания препарата по соотношению мертвых (окрашенных) и живых (неокрашенных) клеток [10].

Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) — продуктов взаимодействия антиген-антитело-комплемент, — оценивали спектрофотометрическим методом по преципитации ЦИК в полиэтиленгликоле (ПЭГ 6000). Концентрацию пептидов средней молекулярной массы

(ПСММ) также определяли спектрофотометрически в ультрафиолетовом диапазоне длин волн после осаждения грубодисперсных белков. В обоих случаях использовали спектрофотометр СФ-46

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием критерия Стьюдента ($P < 0,05$). Обработку цифровых данных и графическую визуализацию результатов выполняли с помощью компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты исследования

При попадании микробных антигенов нейтрофилы осуществляют их процессинг (фагоцитоз) за счет действия лизосомальных ферментов внутри фагосомы. Как видно на рис. 1, показатели фагоцитарной активности нейтрофилов (ФИ, ФЧ и ИЗФ) имели тенденцию к нормализации после курса фототерапии с длинами волн светового излучения 470 нм, 530 нм, 630 нм в основной группе пациентов с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа.

После светового воздействия ФИ снижался в среднем на 8% по сравнению с данным показателем до лечения (рис. 1, А). Уровень ФЧ в основной группе пациентов, исходно завышенный относительно группы контроля (здоровые лица, 2,9 усл. ед.), снизился после лечения вдвое, до 2,4 усл. ед., за счет снижения контаминации микробными телами (рис. 1, Б).

В основной группе больных после светового воздействия было отмечено некоторое возрастание (на 6%) против исходного уровня величины ИЗФ, характеризующей выполнение нейтрофилами фагоцитирующих функций (рис. 1, В). А в группе сравнения этот показатель снизился после применения стандартных схем лечения антимикробной терапии в 1,4 раза, что свидетельствует о недостаточности переваривающей функции фагоцитов.

Реакция поглощения и переваривания в нейтрофилах сопровождается образованием активных форм кислорода, преимущественно в мембранах клеток и в мембранах фагосом в результате активации НАДФ-Н-оксидазы. В результате переноса этим ферментом электронов на кислород образуются супероксидный анион, перекись водорода и ряд других активных форм кислорода, обладающих сильным микробоцидным действием [5].

Таким образом, анализ переваривающей способности фагоцитирующих нейтрофилов периферической крови после курса фототерапии свидетельствует об увеличении (по сравнению со здоровым контролем) интенсивности эндоцитоза при острой системной воспалительной реакции, что характеризовалось снижением ФИ, ФЧ и возрастанием ИЗФ кислородонезависимого фагоцитоза. В то же время в группе пациентов

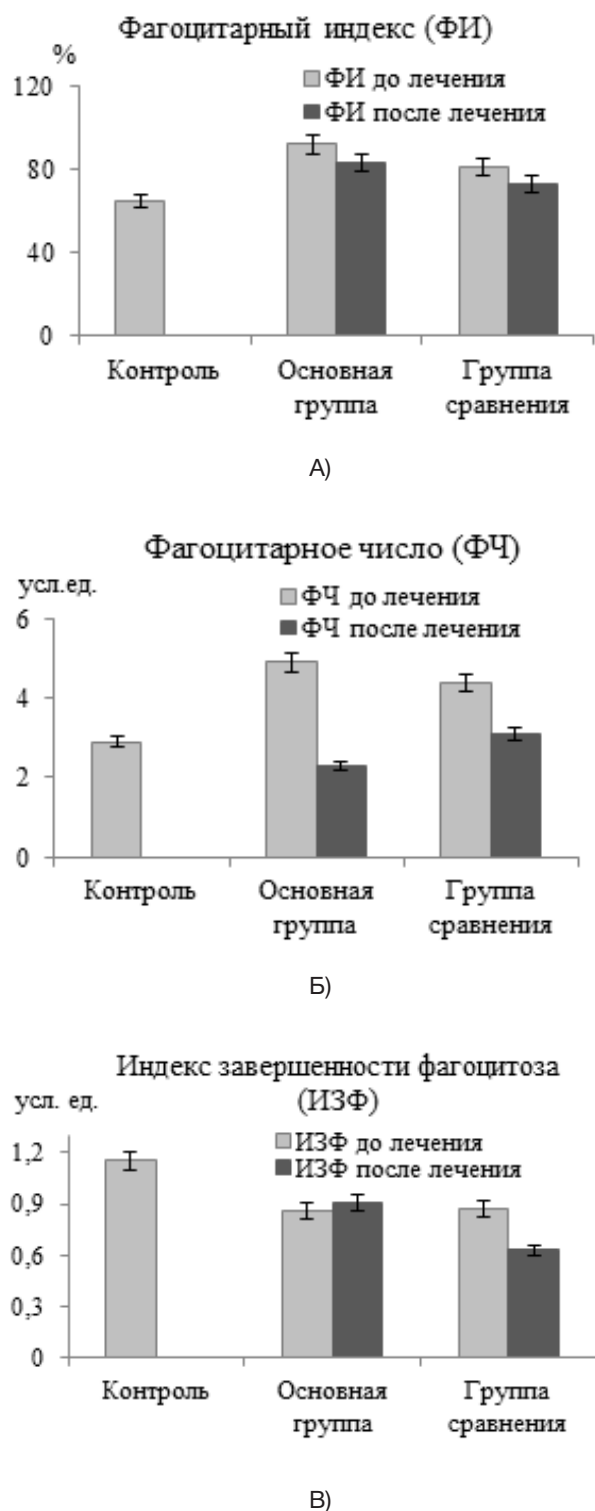


Рис. 1. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов в трех группах пациентов

с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа, которым применяли только стандартные схемы антимикробного лечения без фототерапии, уровень ФЧ снижался менее выражено, а показатель ИЗФ даже несколько угнетался в процессе лечения.

Оценка общей окислительно-восстановительной активности нейтрофилов в НСТ-тесте (рис. 2) показала, что клетки поглощали и окисляли гранулы красителя с различной интенсивностью в зависимости от восстановительной способности ферментов, проявляемой под влиянием супероксид аниона (O_2^-), образующегося в НАДФ-Н-оксидазной реакции.

Количество клеток, спонтанно поглотивших краситель в НСТ-тесте (СП), снижалось у больных с гнойно-септическими осложнениями после фототерапии в 1,5 раза (рис. 2, А). В то же время при стимуляции зимозаном (СТ) количество клеток, поглотивших краситель, возросло после светового воздействия в 1,6 раза относительно исходного уровня (рис. 2, Б).

Высокий уровень индукции ферментов зимозаном характеризовал нормальную иммунореактивность, а повышение спонтанной окислительной активности в основной группе до светового воздействия и в группе сравнения свидетельствовало об истощении окислительного резерва нейтрофилов.

Лизосомальные ферменты в фагосоме разрушают микроорганизмы с помощью механизма эндоцитоза при участии активных форм кислорода — анионпероксида (O_2^-), и с образованием перекиси водорода — H_2O_2 , хлорноватистой кислоты — $HOCl$, миелопероксидазы и фосфолипазы A2-PLA2. Гидролитические ферменты фагосомы — гранзимы, лактоферины, протеазы, нуклеазы, липазы, фосфолипазы, фосфатазы, сульфатазы, — катализируют реакции расщепления веществ, составляющих структуру микроорганизмов [3]. Сочетанное действие синглетного кислорода и гидролитических ферментов вызывает разрушение мембраны микробной клетки по механизму перекисного окисления липидов. Повреждающее действие фотохимического процесса обусловлено образованием активных форм синглетного кислорода в фагоцитирующих клетках и свободно-радикальными реакциями, что аналогично естественным процессам иммунного ответа [7].

Величина ИС в основной группе пациентов с гнойно-септическими осложнениями возрастала в 3 раза после курса фототерапии, что свидетельствовало об активации светом ферментных метаболических систем фагоцитов (рис. 2, В).

Спонтанный НСТ-тест диагностически значим для контроля эффективности антибактериальной терапии. При адекватном лечении число спонтанно-активированных лейкоцитов понижается быстрее, чем показатель СОЭ, и в лейкоцитарной формуле происходит сдвиг влево. Нормализация показателя спонтанного НСТ-теста служит критерием глубины ремиссии и основанием для сокращения срока лечения у пациентов после фототерапии.

При проведении лимфоцитотоксического теста Тerasaki у пациентов с гнойно-септическими осложнениями было выявлено значительное количество аутоиммунных антител (в среднем 65%).

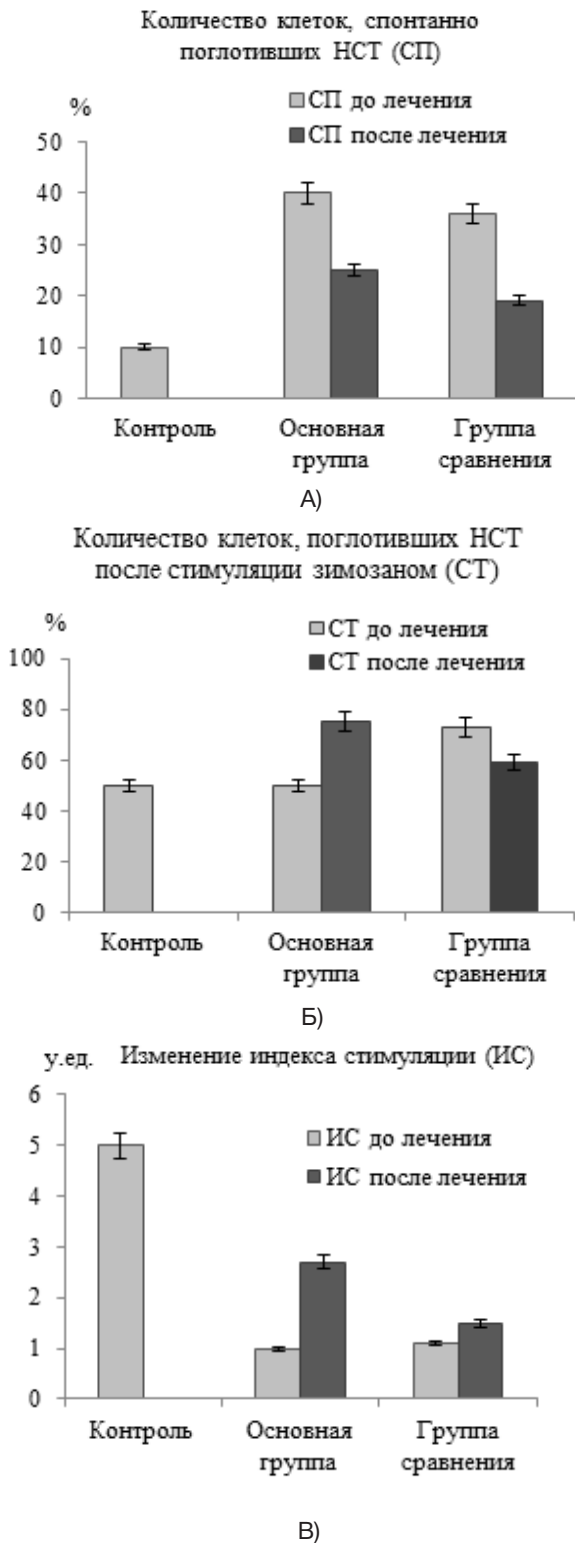


Рис. 2. Показатели активности ферментов фагоцитирующих клеток в трех группах пациентов по результатам спонтанного (СП) и стимулированного зимозаном (СТ) теста на поглощение нитросинего тетразолия (НСТ)

После проведения курса фототерапии данный показатель лимфоцитотоксичности (ЛЦТ) снижался на 15% (рис. 3). Нарушение функции иммуногенетического контроля при опосредованной оценке аутоиммунных реакций с помощью теста ЛЦТ свидетельствует о позитивной регуляции функциональной активности В-лимфоцитов — продуцентов аутоантител — после регулярного светового воздействия на раневую поверхность у больных основной группы.

Микробные антигены при попадании в организм опсонизируются (нейтрализуются) белками системы комплемента (С3, С4, С5) и иммуноглобулинами IgA, IgM, IgG. Антитела с антигенами и комплементом образуют циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), которые выводятся из организма либо элиминируются с помощью фагоцитоза. В основной группе пациентов с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа концентрация ЦИК после курса фототерапии снижалась в 1,7 раза по сравнению с исходным значением — вероятно, за счет их элиминации (рис. 4). В группе пациентов, которым не проводили фототерапию с применением сенсоби-

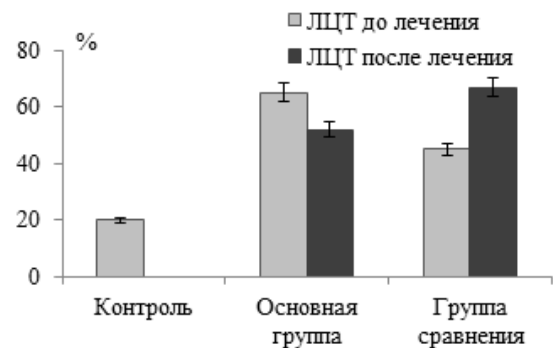


Рис. 3. Показатель лимфоцитотоксичности (ЛЦТ) в трех группах пациентов

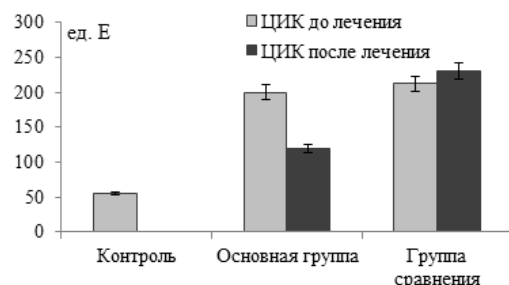


Рис. 4. Показатели концентрации ЦИК (ед.Е) в трех группах пациентов

лизатора, не выявили позитивного снижения ЦИК, а, напротив, отмечали даже некоторое увеличение концентрации ЦИК в среднем на 9%.

Концентрация ЦИК является важным диагностическим критерием при клиническом мониторинге иммунного дисбаланса. Она зависит от функциональной активности В-лимфоцитов, от скорости элиминации (выведения) этих комплексов при воспалительных процессах, от специфичности, avidности и аффинности иммуноглобулинов, которые входят вместе с фрагментами комплемента в состав циркулирующих иммунных комплексов. Изменение содержания ЦИК в сыворотке крови может быть следствием нарушения антиген-презентирующей функции мононуклеаров и дендритных клеток или повышения функциональной активности иммунорегуляторных клеток, имеющих на своей мембране Treg-рецепторы. Нормализация концентрации циркулирующих иммунных комплексов у больных с системной воспалительной реакцией может быть следствием усиления их клиренса или их гидролиза при изменении функции протеолитических ферментов.

Концентрация пептидов средней молекулярной массы (ПСММ), представляющих собой продукты катаболизма высокомолекулярных соединений, снижалась после курса фототерапии у пациентов основной группы в среднем в 1,9 раза относительно исходного уровня. У пациентов с гнойными ранами на фоне сахарного диабета, не получавших светового воздействия, также было отмечено снижение концентрации ПСММ, но менее выраженное — в среднем на 12% (рис. 5). Интенсивность их образования характеризует нормализацию функционального состояния гидролитических ферментов после позитивного воздействия лечения на процессы очистки ран и интенсивность регенерации.

У пациентов с гнойными ранами на фоне сахарного диабета также проводили определение содержания гликозилированного гемоглобина (HbA1c) и С-пептида в периферической крови. При этом

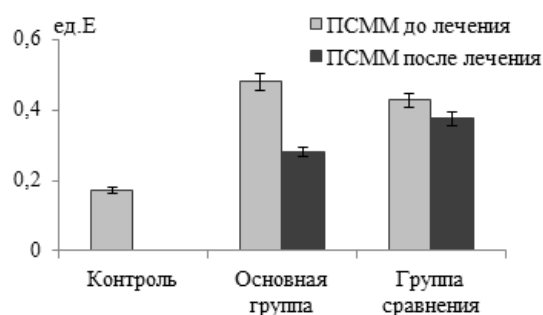


Рис. 5. Концентрация пептидов средней молекулярной массы (ПСММ) у пациентов трех групп

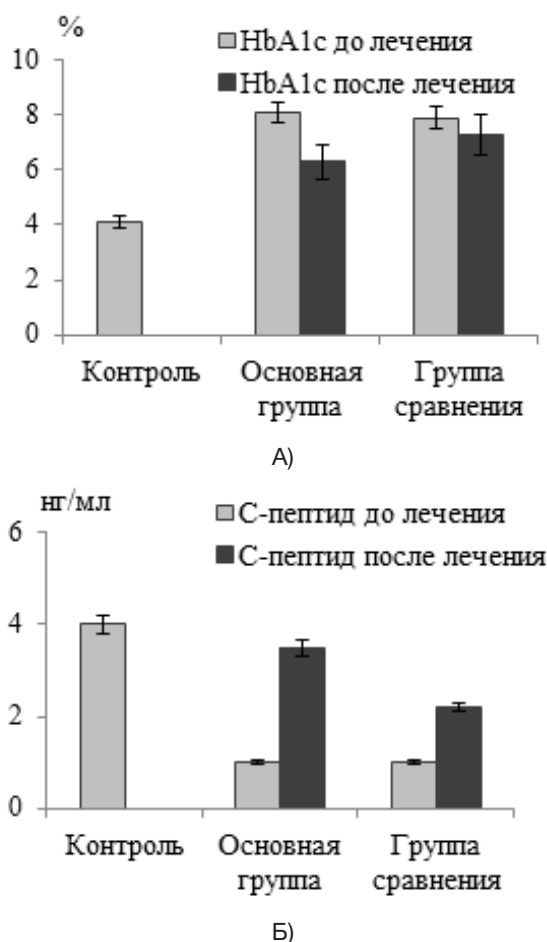


Рис. 6. Концентрация гликозилированного гемоглобина (А) и С-пептида (Б) у пациентов трех групп

отмечали тенденцию к снижению уровня HbA1c после курса лечения, более выраженную в группе пациентов, которым проводили фототерапию, чем в группе пациентов с применением стандартных схем лечения (рис. 6, А). Что касается изменения концентрации С-пептида, то была выявлена положительная тенденция к ее возрастанию, более выраженная в основной группе пациентов, получавших световое воздействие на раны (рис. 6, Б).

Таким образом, у пациентов с гнойными ранами на фоне сахарного диабета II типа наблюдали нормализацию показателей, характеризующих углеводный обмен, усиление регенеративных процессов в периоды реконвалесценции на фоне снижения интенсивности факторов гуморальной сенсibilизации (ЛЦТ, ЦИК, ПСММ), обладающих патогенным цитотоксическим действием.

Выводы

1. У пациентов с гнойно-септическими ранами нижних конечностей на фоне некомпенсированного течения сахарного диабета II типа после курса фототерапии с применением излучения светодиодов с длинами волн 470 нм, 530 нм, 630 нм и фотосенсибилизатора димегин наблюдалась

постепенная нормализация иммунологических показателей.

2. Выявлена нормализация барьерной функции нейтрофилов после комбинированного светового воздействия, проявляющаяся в стимулировании функционального состояния фагоцитирующих клеток, а именно — в активации хемотаксиса и эндоцитоза нейтрофилов.

3. У пациентов с гнойно-септическими осложнениями на фоне сахарного диабета курс фототерапии с димегином усиливает стимуляцию окислительного резерва ферментов в НСТ-тесте.

4. Регулярное световое воздействие вызывает уменьшение концентрации патогенных циркулирующих иммунных комплексов за счет снижения антигенного груза и увеличения активности гидролитических ферментов, стимулирующих вывод циркулирующих иммунных комплексов из организма.

5. Таким образом, световое воздействие с применением фотосенсибилизатора нормализует молекулярные механизмы, отвечающие за иммунореактивность и иммунорезистентность у больных с гнойными ранами на фоне сахарного диабета II типа.

Литература

1. Дремова Е.Е. Диагностика и лечение кератозов / Е.Е.Дремова, А.В.Гейниц // *Лазерная медицина*. – 2015. – Т. 19, № 1. – С. 5–8.
2. Каракоев К.Г. Опыт клинического применения лазерной фотодинамической системы в стоматологии / К.Г.Каракоев, Э.Э.Хачатурян, З.А.Сеураниду // *Пародонтология*. – 2012. – № 1. – С. 61–63.
3. Красновский А.А. Фотодинамическое действие и синглетный кислород // *Биофизика*. – 2004. – Т. 49, № 2. – С. 305–321.
4. Крюков И.А. Современные возможности применения антимикробной фотодинамической терапии в оториноларингологии / И.А.Крюков, А.С.Лапченко, А.В.Гуров и др. // *Лазерная медицина*. – 2014. – Т. 18, № 1. – С. 39–41.
5. Хаитов Р.М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы / Р.М.Хаитов, Б.В.Пинегин, А.А.Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.
6. Странадко Е.Ф. Фотодинамическая терапия при гнойных заболеваниях мягких тканей / Е.Ф.Странадко, У.М.Корабаев, М.П.Толстых // *Хирургия*. – 2000. – № 9. – С. 67–70.
7. Ge J. A grapheme quantum dot photodynamic therapy agent with high singlet oxygen generation / J.Ge, M.Lan, B.Zhou et al. // *Nat. Commun.* – 2014. – № 5. – 4596. doi:10.1038/ncomms5596.
8. Muniz-Junqueira M.I. Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes / M.I.Muniz-Junqueira, L.M.Peçanha, V.L.Silva-Filho et al. // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2003. – Vol. 10. – P. 1096–1102.
9. Park B.H. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: A diagnostic acid / B.H.Park, S.M.Fikrig, E.M.Smithwick // *Lancet*. – 1968. – Vol. 7567, № 2. – P. 532–534.
10. Terasaki P.I. Microdroplet assay of human serum cytotoxins / Terasaki P.I., Mclelland J.D. // *Nature*. – 1964. – Vol. 204. – P. 998–1000.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Климова Елена Михайловна — д-р биол. наук, проф., зав. диагностической лабораторией с иммуноферментным и иммунофлюоресцентным анализом ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины». Адрес: въезд Балакирева, 1, г. Харьков, 61018, Украина; тел.: +38 (057) 715-33-48; +38 (057) 349-41-15; +38 (050) 303-31-72; e-mail: labionhnamnu@gmail.com.

Коробов Анатолий Михайлович — канд. физ.-мат. наук, заведующий НИ лабораторией квантовой биологии и квантовой медицины Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Адрес: майдан Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина; тел.: +38 (057) 707-51-91; +38 (050) 031-98-62; e-mail: amkorobov@i.ua.

Иванова Юлия Викторовна — д-р мед. наук, вед. научн. сотр. диагностической лаборатории с иммуноферментным и иммунофлюоресцентным анализом ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины». Адрес: въезд Балакирева, 1, г. Харьков, 61018, Украина; тел.: +38 (057) 715-33-48; +38 (057) 349-41-15; +38 (067) 475-74-20; e-mail: mukha@mail.ru.

Быченко Екатерина Алексеевна — младш. научн. сотр. диагностической лаборатории с иммуноферментным и иммунофлюоресцентным анализом ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины». Адрес: въезд Балакирева, 1, г. Харьков, 61018, Украина; тел.: +38 (057) 715-33-48; +38 (057) 349-41-15; +38 (050) 400-57-52; e-mail: labionhnamnu@gmail.com.

Лавинская Елена Владимировна — канд. биол. наук, старш. научн. сотр. диагностической лаборатории с иммуноферментным и иммунофлюоресцентным анализом ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины». Адрес: въезд Балакирева, 1, г. Харьков, 61018, Украина; тел.: +38 (057) 715-33-48; +38 (057) 349-41-15; e-mail: labionhnamnu@gmail.com.

О. М. Клімова¹, А.М. Коробов², Ю.В. Іванова¹, О.В. Лавінська¹, К.А. Биченко¹

¹ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева НАМН України», м. Харків, Україна

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, м. Харків, Україна

ЗМІНА ІМУНОРЕАКТИВНОСТІ У ПАЦІЄНТІВ З ГНІЙНО-СЕПТИЧНИМИ РАНАМИ НИЖНІХ КІНЦІВОК НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ ПІСЛЯ СВІТЛОВОЇ ДІЇ

Вступ. Актуальним є застосування світлової дії різних діапазонів для посилення місцевих регенеративних процесів при гнійних ранах на тлі цукрового діабету, так як стандартні схеми антибіотикотерапії не завжди ефективні і вимагають тривалого застосування. Механізми адаптогенеза, що активізуються на тлі світлового впливу з використанням фотосенсибілізатора істотно впливають на процеси клітинного і гуморального імунітету.

Метою роботи було вивчення імунокоригуючих ефектів фототерапії різних довжин хвиль випромінювання (470, 530, 630 нм) із застосуванням фотосенсибілізатора в комплексному лікуванні гнійних ран на тлі цукрового діабету.

Матеріали та методи. Групи обстежених пацієнтів з гнійними ранами на тлі некомпенсованого перебігу цукрового діабету II типу були сформовані відповідно до проведеного лікування. До основної групи були включені пацієнти з гнійно-септичними ранами нижніх кінцівок, яким проводили фототерапію із застосуванням фотосенсибілізатора Дімегін, а в групу порівняння були включені пацієнти з гнійно-септичними ранами нижніх кінцівок, яким проводили стандартну антимікробну схему лікування без фототерапії. Опромінені зони патології проводили фотонними матрицями Коробова А.-Коробова В. серії «Барва».

Пацієнтам з гнійно-септичними ранами нижніх кінцівок на тлі цукрового діабету II типу проводили визначення С-пептиду і глікозильованого гемоглобіну HbA1c. На моделі *in vitro* визначали кисень незалежний і кисеньзалежний (НСТ-тест) фагоцитоз, ступінь лімфоцитотоксичності в тесті Терасакі, концентрацію циркулюючих імунних комплексів та пептидів середньої молекулярної маси.

Результати досліджень. У пацієнтів з гнійними ранами на тлі цукрового діабету відзначали тенденцію до зниження глікозильованого гемоглобіну більш виражену в групі пацієнтів, яким проводили фототерапію, ніж в групі пацієнтів із застосуванням стандартних схем лікування. Концентрація С-пептиду більш виражено зростала в групі пацієнтів із застосуванням фототерапії.

Концентрація пептидів середньої молекулярної маси знижувалися після курсу фототерапії у пацієнтів основної групи в середньому в 1,9 рази відносно вихідного рівня в порівнянні з пацієнтами, яким не проводили фототерапію.

Висновки. Комбінований світловий вплив із застосуванням фотосенсибілізатора дімегін на рани випромінюванням світлодіодів з довжинами хвиль 470, 530, 630 нм стимулює і регулює функціональний стан всіх фагоцитуючих клітин, що проявляється в активації хемотаксису і ендоцитозу нейтрофілів. Регулярний світловий вплив викликав зменшення концентрації патогенних циркулюючих імунних комплексів за рахунок зниження антигенного навантаження і збільшення активності гідролітичних ферментів, що стимулює вихід циркулюючих імунних комплексів з організму. Таким чином, світловий вплив нормалізував молекулярні механізми, що відповідають за імунореактивність та імунорезистентність.

Ключові слова: фототерапія, фотосенсибілізатор, гнійні рани, імунорезистентність, імунореактивність.

Е.М. Klimova¹, А.М. Korobov², Yu.V. Ivanova¹, E.V. Lavinska¹, E.A. Bychenko¹

¹SI «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of NAMS of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkov National University, Kharkiv, Ukraine

CHANGES IN IMMUNOREACTIVITY IN PATIENTS WITH PURULENT-SEPTIC WOUNDS OF THE LOWER EXTREMITIES AGAINST THE BACKGROUND OF TYPE II DIABETES MELLITUS AFTER LIGHT EXPOSURE

Introduction. Actual is the use of light exposure of different ranges to enhance local regenerative processes in purulent wounds against the background of diabetes mellitus, since standard antibiotic regimens are not always effective and require long-term use. Mechanisms of adaptogenesis, activated against the background of light exposure using a photosensitizer, have a significant effect on the processes of cellular and humoral immunity.

The aim of the work was to study the immunocorrecting effects of phototherapy of different wavelengths of radiation (470, 530, 630 nm) using a photosensitizer in the complex treatment of purulent wounds against the background of diabetes mellitus.

Materials and methods. Groups of examined patients with purulent wounds on the background of uncompensated course of type II diabetes were formed in accordance with the treatment. The main group included

patients with purulent-septic wounds of the lower extremities against the background of type II diabetes mellitus, which was phototherapy with the photosensitizer Dimegin, and the comparison group included patients with purulent-septic wounds of the lower extremities against the background of type II diabetes mellitus. A standard antimicrobial treatment regimen without phototherapy was performed. Irradiation of the pathology zone was carried out with photon matrices Korobov A.-Korobov V. series «Barva».

Patients with purulent-septic wounds of the lower extremities against the background of type II diabetes mellitus were assessed for the C-peptide and glycosylated hemoglobin HbA1c. In the *in vitro* model, oxygen-dependent and oxygen-independent (NST-test) phagocytosis, lymphocytotoxicity in the Terasaki test, concentration of circulating immune complexes and peptides of average molecular weight were determined.

Results of the research. Patients with purulent wounds on the background of diabetes mellitus had a tendency to decrease glycosylated hemoglobin more pronounced in the group of patients who underwent phototherapy than in the group of patients using standard treatment regimens. The concentration of C-peptide was more pronounced in the group of patients with phototherapy.

The concentration of peptides of average molecular weight decreased after the phototherapy course in the patients of the main group averaged 1.9 times the baseline compared to patients who did not undergo phototherapy.

Conclusions. Combined light exposure with the use of the photosensitizer dimegin on wounds by radiation of light emitting diodes with wavelengths of 470, 530, 630 nm stimulates and regulates the functional state of all phagocytic cells, which is manifested in activation of chemotaxis and endocytosis of neutrophils. Regular light exposure caused a decrease in the concentration of pathogenic circulating immune complexes by reducing the antigenic load and increasing the activity of hydrolytic enzymes that stimulate the release of circulating immune complexes from the body. Thus, light exposure normalized the molecular mechanisms responsible for immunoreactivity and immunoresistance.

Key words: phototherapy, photosensitizer, purulent wounds, immunoresistance, immunoreactivity.