

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА РЕГЕНИРАЦИИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА ПРИ АКТИВАЦИИ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА 1% ВОДНОГО РАСТВОРА
МЕТИЛЕНОВОГО СИНЕГО**

Казеко Л.А., Кармалькова И.С., Юдина О.А. *, Мостовников А.В. **

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»
1-я кафедра терапевтической стоматологии*

** УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минск*

*** Институт физики НАН РБ
г. Минск*

Фотодинамическая терапия-метод сочетанной лазерной терапии, основанный на избирательном накоплении фоточувствительного препарата (фотосенсибилизатора) в клетках-мишенях с последующим облучением их светом определенной интенсивности и длины волны (2, 8, 9).

Фотодинамический эффект был открыт в 1900 г. О. Раабом, аспирантом известного биолога Г. фон Таппейнера (1, 2, 3, 12).

Фотодинамическая терапия - трехкомпонентный метод воздействия. Два компонента - фотосенсибилизатор и свет являются экзогенными внешними факторами. Третьим обязательным компонентом фотодинамической реакции является эндогенный фактор – кислород (1, 2, 4, 5, 15, 11, 12).

Основой ФДТ является химическая реакция, развивающаяся в биологических тканях после введения экзогенного фотосенсибилизатора и воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны, соответствующей пику поглощения данного фотосенсибилизатора. При облучении сенсibilизированной ткани молекула фотосенсибилизатора, поглотив квант излучения, переходит в возбужденное состояние и затем вступает в фотохимические реакции (2, 5, 8).

Фотохимические реакции первого типа включает прямое воздействие возбужденного светом фотосенсибилизатора на субстрат и образование переходных радикалов, которые затем вступают в реакцию с кислородом, присутствующем во всех живых клетках.

В фотодинамической реакции второго типа перенос энергии осуществляется из возбужденного триплетного состояния фотосенсибилизатора на молекулярный кислород с образованием синглетной формы кислорода, который быстро и активно реагирует с многочисленными биомолекулами, входящими в состав клеточных мембран (7, 8, 9, 11, 12). Под влиянием светового воздействия, избирательно поглощаемого фотосенсибилизатором, начинается каскад фотохимических реакций, сопровождаемый образованием ряда активных форм кислорода, свободных радикалов, которые и оказывают действие на патологические клетки и ткани. Основное значение в процессе фотодинамической терапии отводят синглетному состоянию кислорода (4, 9, 11, 12).

Большинство фотосенсибилизаторов способны индуцировать процессы как первого, так и второго типа, хотя обычно преобладает какой-то один тип. К фотосенсибилизаторам, инициирующим преимущественно процесс второго типа, относятся порфирины, метиленовый синий, флуоресцин, толуидиновый синий (4).

Избирательность воздействия при фотодинамической терапии определяется способностью фотосенсибилизатора накапливаться преимущественно в клетках-мишенях, а ключевым моментом для оптимально ответа на воздействие является достаточное его накопление (2, 7).

Фотосенсибилизирующие вещества могут быть разделены на три больших семейства: на основе порфирина (фотофрин и др.), хлорофилл-основные фотосенсибилизаторы (хлорины, пурпурины, бактериохлорины и др.), красители (фталоцианин, нафталоцианин и др.) (7).

Некоторые красители обладают антибактериальной активностью без дополнительного светового воздействия, например, акрифлавин или метиленовый синий. Известно, что синие красители, являются сильными

сенсibilизаторами для ряда бактерии при взаимодействии с лазером в видимом красном спектре (6).

Метиленовый синий был первым красителем, который использовался в медицине в качестве антисептического средства, а так же первым протестированным и разрешенным к применению фотосенсibilизатором для антимикробной фотодинамической терапии (3, 17).

Согласно литературным данным для активации фотосенсibilизаторов на сегодняшний день с успехом применяются как лазерные аппараты, так и нелазерные источники света в диапазоне спектра поглощения используемого фотосенсibilизатора (2, 12). Однако для эффективной фотодинамической терапии предпочтительно применять именно лазерные источники света, из-за особенностей лазерного излучения (когерентности, монохроматичности, интенсивности и сингулярности направления излучения), а так же лазеры позволяют достичь высокой плотности мощности в требуемом спектральном диапазоне, имеется возможность доставки излучения к очагу без значительных потерь мощности и возможность точного измерения дозы облучения (4, 12).

Цель исследования: изучить влияние фотодинамической терапии с фотосенсibilизатором 1% водным раствором метиленового синего на характер репаративных процессов слизистой оболочки рта лабораторных животных.

Материалы и методы. Для изучения влияния фотодинамической терапии с фотосенсibilизатором 1% водным раствором метиленового синего на характер репаративных процессов слизистой оболочки рта нами были выбраны собаки.

Эксперимент проходил в виварии УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с правилами работы с лабораторными животными, с учетом принципов Всемирного общества защиты животных (WSPA). Все животные содержались в стандартных условиях вивария и на стандартном пищевом режиме.

За 5 дней до начала эксперимента всем собакам была проведена профессиональная гигиена полости рта. В первые сутки экспериментального исследования моделировались язвенные поражения слизистой рта (по 5 язв на слизистой оболочке щеки у 8 собак, разделенных на 2 группы). На 2-5 сутки проводилась фотодинамическая терапия с фотосенсibilизатором 1% водным раствором метиленового синего (группа лабораторных животных №1) и традиционное медикаментозное лечение (группа лабораторных животных №2).

В качестве источника лазерного излучения был применен

фототерапевтический аппарат «Снаг-Сенс-К» производства ПК «Люзар» (Республика Беларусь), с максимальной мощностью до 300 мВт и длиной волны 670 нм.

Терапевтический аппарат «Снаг-Сэнс-К» характеризуется повышенной интенсивностью лазерного излучения «красной» области спектра, что обеспечивает проведение фоторегуляторной терапии с максимально глубоким проникновением излучения в ткань и возможность проведения фотодинамической терапии и флюорисцентной диагностики.

Первой группе лабораторных животных фотосенсибилизатор 1% водный раствор метиленового синего на стерильной марлевой повязке помещался в полость рта на область ранее смоделированных язвенных поражений на 10 минут. Избытки фотосенсибилизатора удаляли стерильной салфеткой и проводили сеанс фотодинамической терапии.

Второй группе лабораторных животных проводилось традиционное лечение язвенных поражений слизистой оболочки рта с орошением полости рта 0,05% водным раствором хлоргексидина биглюконата и аппликацией мазей «Репарэф-1» и «Репарэф-2» в зависимости от стадии патологического процесса.

Моделирование язв на слизистой оболочке щеки у собак и забор наркозом. Морфологический материал забирался ежедневно, после проведения лечебных процедур в двух сравниваемых группах.

Ткани были фиксированы 10% нейтральным формалином и заключены в парафин. Толщина гистологических срезов составила 5 мкм. Все препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Использовали также окраску Martius-Scarlett-Blue для выявления повреждений в субэпителиальной соединительной ткани и коллагеновых волокнах.

При оценке влияния ФДТ на характер репаративных процессов слизистой оболочки рта оценивали состояние многослойного плоского эпителия, изменение сосудов, коллагеновых волокон и нервных стволиков в субэпителиальной зоне, учитывали характер и выраженность воспалительной инфильтрации в зоне повреждения.

Результаты и обсуждение.

I. Оценка изменений многослойного плоского эпителия в субэпителиальной зоне.

В группе лабораторных животных с фотодинамической терапией (рис. 1А) изменения многослойного плоского эпителия характеризуются протяженностью и вовлечением коллагеновых волокон (поверхностный некроз) и сосудов в субэпителиальной зоне.

При традиционном методе лечения повреждения многослойного плоского эпителия характеризуются мультифокальностью (рис.1Б).

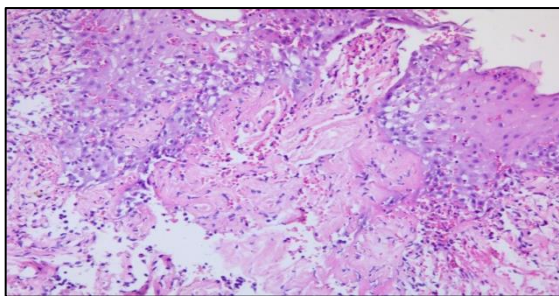


Рис. 1А. Микроскопическая картина изменений многослойного плоского эпителия в субэпителиальной зоне в группе с фотодинамической терапией (окраска гематоксилин и эозин, ув.х50)

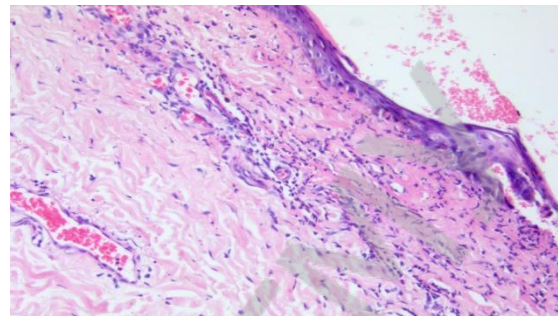


Рис. 1Б. Микроскопическая картина изменений многослойного плоского эпителия в субэпителиальной зоне в группе с традиционным методом лечения (окраска гематоксилин и эозин, ув.х50)

II. Формирование язвенного дефекта.

При проведении фотодинамической терапии формируется глубокий, но узкий дефект (рис. 2А).

Формирование язвенного дефекта в группе с традиционным лечением запаздывает (рис. 2Б), однако дефект формируется широкий за счет мультифокальности повреждения.

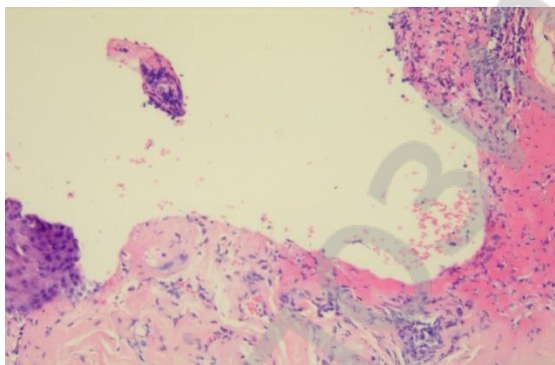


Рис. 2А. Микроскопическая картина формирования язвенного дефекта в группе с фотодинамической терапией (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

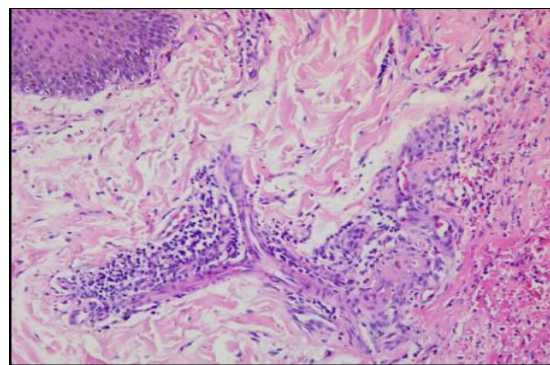


Рис. 2Б. Микроскопическая картина формирования язвенного дефекта в группе с традиционным методом лечения (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

III. Вовлечение нервных стволиков.

В группе с фотодинамической терапией не наблюдалось вовлечения нервных стволиков в патологический процесс (рис 3А).

При применении раствора хлоргексидина и мазей «Рэпареф-1» и «Рэпареф-2» (группа с традиционным лечением) инфильтрат плотный, преимущественно периваскулярный и периневральный (рис. 3Б), что в клинической практике обуславливает наличие болевого синдрома.

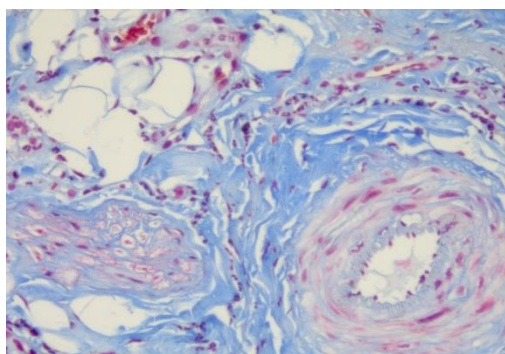


Рис. 3А. Микроскопическая картина вовлечения нервных стволиков в патологический процесс в группе с фотодинамической терапией (окраска Martius-Scarlett-Blue, ув.х400)

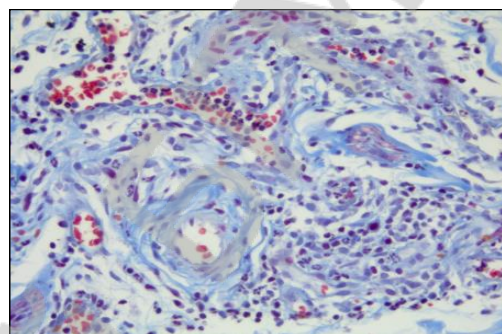


Рис. 3Б. Микроскопическая картина вовлечения нервных стволиков в патологический процесс в группе с традиционным лечением (окраска Martius-Scarlett-Blue, ув.х400)

IV. Очищение дефекта от детрита.

Очищение дефекта от детрита происходит неравномерно в сравниваемых группах. Если в группе с фотодинамической терапией дефект к 3 суткам очищается от детрита (рис 4А), то в группе с традиционным лечением на 3 сутки еще остаются очаги эпителиального покрова (рис 4Б).

V. «Заживление» дефекта.

Заживление дефекта происходит примерно в одинаковые сроки в обеих группах (рис. 5А, рис. 5Б), при этом в зажившем дефекте в группе с традиционным лечением сохраняется скудный воспалительный инфильтрат в субэпителиальной зоне и единичные огрубевшие коллагеновые волокна, чего не наблюдается при проведении фотодинамической терапии.

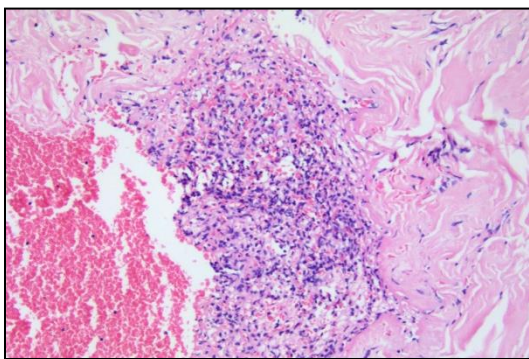


Рис. 4А Микроскопическая картина очищения язвенного дефекта от детрита в группе с фотодинамической терапией (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

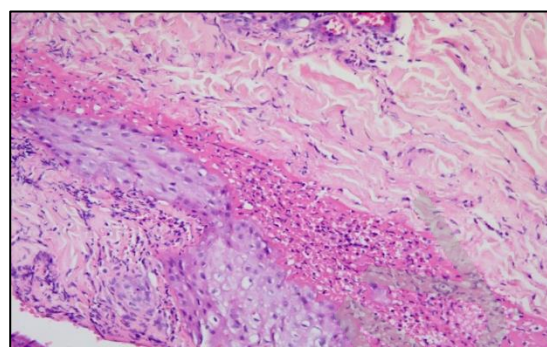


Рис. 4Б Микроскопическая картина очищения язвенного дефекта от детрита в группе с традиционным лечением (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

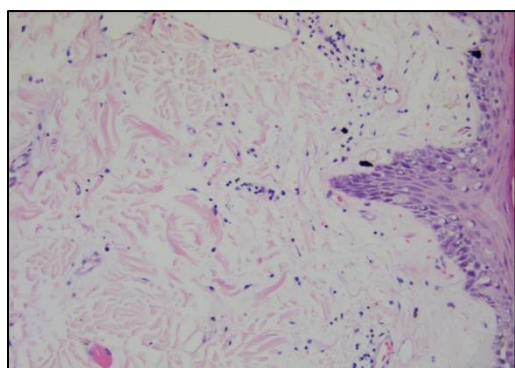


Рис. 5А Микроскопическая картина «заживления» язвенного дефекта в группе с фотодинамической терапией (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

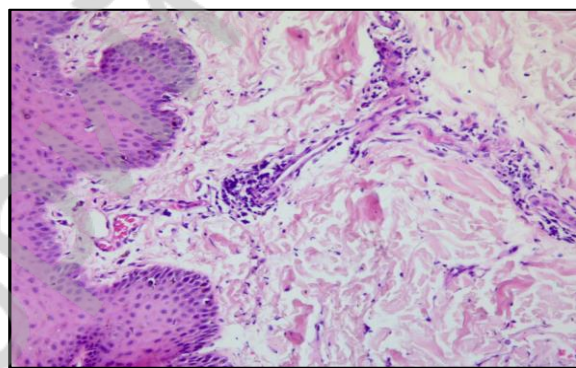


Рис. 5Б Микроскопическая картина «заживления» язвенного дефекта в группе с традиционным лечением (окраска гематоксилин и эозин, ув.х200)

Выводы. При проведении фотодинамической терапии с 1% водным раствором метиленового синего формируется ограниченный дефект, уменьшается распространение дефекта и воспалительная инфильтрация, происходит быстрая элиминация детрита из дефекта и формируется «нежный» рубец. Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что фотодинамическая терапия с 1% водным раствором метиленового синего может быть эффективна в клинической практике, так как будет способствовать более быстрому заживлению эрозивно-язвенного поражения.

Литература

1. Беляева Л.А. Основы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии (обзор литературы) / Л. А., Беляева, А.А. Степанян, Л.В Адамян // Проблемы репродукции. -2004. -№1. -С 6-12.
2. Голдман М.П. Фотодинамическая терапия / М.П. Голдман // Москва.- Рид Эльсивер.- 2011.- 120 с.
3. Заблодский А.Н. Фотодинамическая терапия метиленовым синим геликобактериоза у детей / А.Н. Заблодский, Ю.В. Плавский, А.И. Третьякова, И.А. Заблодский // Иммунопатология. -2001. -№3. -С.74-77.
4. Зольникова Н.Е. Интралакунарная фотодинамическая терапия хронического тонзиллита / Н.Е. Зольникова // Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук .- Оренбург. -2004. - 122 с.
5. Казеко, Л.А. Возможность применения фотодинамической терапии для лечения эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки ротовой полости / Л.А. Казеко, И.С. Кармалькова // Медицинские новости. -2012. -№5. -С. 21-23.
6. Курочкина А.Ю. Использование фототерапии в лечении болезней пародонта: современные аспекты и перспективы применения в Республике Беларусь (обзор литературы) / А.Ю. Курочкина // Медицина. -2008. -№ 3.- С. 36-39.
7. Романко Ю. С. Основы фотодинамической терапии /Ю. С. Романко, С.В. Коренев, В.В. Попучиев, И.З. Вайсбейн, Т.Е. Сухова // Калининград. - Страж Балтики. - 2010. -136 с.
8. Салмин, Р.М. Основные направления фотодинамической терапии в медицине / Р.М. Салмин, А.А. Стенько, И.Г. Жук, М.Ю. Брагов // Новости хирургии. -2008. -№3. -С.155-162.
9. Улащик, В.С. Фотодинамическая терапия и ее применение в клинической медицине / В.С. Улащик // Здоровоохранение. -2006. -№6. -С.24-28.
10. Ягудаев, Д.М. Современный взгляд на механизм фотодинамической терапии. Фотосенсибилизаторы и их биодоступность / Д.М. Ягудаев, А.Е. Сорокаий, А.В. Гейниц, Р.С. Труханов // Урология. -2006. -№5.- С. 94-98.
11. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform / T. Dai, B.B. Fuchs, J.J. Coleman, R.A. Prates, C. Astrakas, T. G. St. Denis, M. S. Ribiero, E. Mylonakis, M. R. Hamblin, G. P. Tegos // Frontiers in microbiology. -2012. -Vol.3. - p. 1-16.
12. Doshi Y. Photodynamic therapy: A new vista in management of periodontal disease / Y. Doshi, Priya S. Patil, N. Shah, S. Dixit, M. Shah // Journal of the International Clinical Dental Research Organization. - 2010. -Vol.2. -Issue 2.- p. 57-63.