

УДК 616.5-001.15-002.44-022.7-036.864-092.9:615.831:615:382

М. В. Красносельський<sup>1</sup>, О. С. Пушкар<sup>1</sup>, Л. І. Сімонова<sup>1</sup>, М. С. Мирошніченко<sup>2</sup>✉<sup>1</sup>Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», вул. Пушкінська, 82, м. Харків, 61024, Україна<sup>2</sup>Харківський національний медичний університет, просп. Науки, 4, м. Харків, 61022, Україна

## ВПЛИВ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ ТА ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ НА ПРОЦЕСИ ЗАГОЄННЯ ПРОМЕНЕВИХ ВИРАЗОК ШКІРИ, ІНФІКОВАНИХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Мета:** визначення в експерименті якості загоєння променевих виразок шкіри, інфікованих *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), в умовах проведення фотодинамічної терапії (ФДТ) та використання збагаченої тромбоцитами плазми (platelet rich plasma – PRP).

**Матеріали і методи.** Проведено експеримент на 95 щурах-самцях лінії WAG 6-місячного віку, яких було розподілено на три групи. До групи 1 увійшли тварини, яким моделювали променеву виразку шкіри в ділянці стегна з наступним нанесенням на її поверхню на 7-му добу після опромінення 0,2 мл суспензії референтного штаму *S. aureus*. До групи 2 увійшли тварини з інфікованою *S. aureus* променевою виразкою шкіри, яким через добу після інфікування проводили ФДТ. До групи 3 увійшли тварини з інфікованою *S. aureus* променевою виразкою шкіри, яким через добу після інфікування в першій половині дня проводили ФДТ, а в другій половині дня обколювали периферію рани PRP. Матеріалом для морфологічного дослідження була шкіра з підлеглими м'якими тканинами з ділянки променевого ушкодження. Мікропрепарати забарвлювали гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, за Маллорі. Проводили морфометричне дослідження.

**Результати.** У тварин з променевою виразкою шкіри, яким після інфікування *S. aureus* проводили ФДТ (група 2), порівняно з тваринами з модельованою інфікованою променевою виразкою шкіри без лікування (група 1), за період з 14-ї по 52-му добу експерименту відбувалися активізація і прискорення процесів загоєння за рахунок активних процесів очищення рани від некротизованих тканин; менш виражених запальних змін в осередку ушкодження; активних процесів появи і дозрівання грануляційної тканини; менш виражених гемодинамічних, ішемічних та альтеративних змін у дермі, гіподермі, м'язовій тканині, що оточували ранову порожнину; активізації проліферативних процесів в епітеліальному шарі, що локалізувався в крайових відділах рани. Результатом загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри було формування патологічного (гіпертрофічного або келоїдного) рубця шкіри. У тварин з променевою виразкою шкіри, інфікованою *S. aureus*, у разі проведення ФДТ та введення PRP (група 3), порівняно із застосуванням тільки ФДТ (група 2), регенераторний процес був спрямований не тільки на прискорення темпів загоєння, але й на відновлення первісної структури втраченої частини шкіри. Прискорення процесів загоєння інфікованої променевої виразки шкіри у тварин груп 2 та 3 відбувалося за рахунок подібних процесів.

**Висновки.** Фотодинамічна терапія активізує і прискорює процеси загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри та призводить до формування патологічного рубця (гіпертрофічного або келоїдного). Процеси загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри відбуваються більш активно в умовах проведення фотодинамічної терапії в поєднанні з обколюванням периферії рани збагаченою тромбоцитами плазмою, порівняно із застосуванням тільки фотодинамічної терапії, та завершуються органотиповою регенерацією з практично повним відновленням первісної структури втраченої частини шкіри.

**Ключові слова:** фотодинамічна терапія, збагачена тромбоцитами плазма, променева виразка шкіри, *Staphylococcus aureus*, морфологія.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020. Вип. 25. С. 338–352. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-338-352

✉ Мирошніченко Михайло Сергійович, e-mail: msmyroshnychenko@ukr.net

M. V. Krasnoselsky<sup>1</sup>, O. S. Pushkar<sup>1</sup>, L. I. Simonova<sup>1</sup>, M. S. Myroshnychenko<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>State Institution «Institute of Medical Radiology and Oncology named by S.P. Grigoriev National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 82, Pushkinska St., Kharkiv, 61024, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkiv National Medical University, Nauky Ave., 4, Kharkiv, 61022, Ukraine

## THE EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND PLATELET-ENRICHED PLASMA ON THE HEALING OF SKIN RADIATION ULCERS INFECTED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Objective.** To determine in experiment the quality of healing of skin radiation ulcers infected with *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) under the photodynamic therapy (PDT) administration and the use of platelet-rich plasma (PRP).

**Materials and methods.** The experiment was performed on 95 male WAG rats of 6 months of age, which were divided into three groups. Group 1 included animals in whom a skin radiation ulcers in the thigh area was simulated, followed by application of a 0.2 ml suspension of reference strain of *S. aureus* to its surface on the 7<sup>th</sup> day after irradiation. Group 2 included animals with *S. aureus*-infected skin radiation ulcers, in whom the PET was administered a day after infection contamination. Group 3 included animals with *S. aureus*-infected skin radiation ulcers, in whom the PDT was administered a day after infection in the morning, and the PRP was manifold injected in periwound area in the afternoon. The skin with underlying soft tissues from the area of radiation damage were the material for morphological examination. The hematoxylin and eosin, picrofuxin according to van Gizon, Mallory staining were applied to micropreparations. A morphometric study was conducted.

**Results.** In animals with skin radiation ulcers, in whom the PDT was administered upon infection with *S. aureus* (group 2), compared with animals with simulated infected skin radiation ulcers without treatment (group 1), The activation (i.e. accelerating) of the healing occurred for the period from the 14<sup>th</sup> to the 52<sup>nd</sup> day of experiment due to the active processes of wound cleansing from necrotized tissues, less pronounced inflammatory changes in the lesion, and active of appearance and maturation of granulation tissue, less pronounced hemodynamic, ischemic and alternative disorders in the dermis, hypodermis, muscle tissue surrounding the wound cavity, activation of proliferative processes in epithelial layer localized in the marginal parts of the wound. Formation of pathological (hypertrophic or keloid) scar of the skin was the result of healing of skin radiation ulcer infected with *S. aureus*. In animals with radiation ulcers infected with *S. aureus*, in the case of PDT and PRP (group 3) the regenerative process was directed not only at accelerating the rate of healing, but also on restoration of original structure of the lost parts of the skin compared with only PDT administration (group 2). Acceleration of the healing of the infected skin radiation ulcer in animals of groups 2 and 3 was due to similar processes.

**Conclusions.** Photodynamic therapy activates and accelerates the healing process of skin radiation ulcers infected with *S. aureus* and leads to formation of a pathological scar (hypertrophic or keloid). Healing of the infected *S. aureus* radiation ulcers occurs more actively upon the photodynamic therapy administration in combination with multiple periwound injections of the platelet-enriched plasma, compared with only photodynamic therapy administration, and finishes with an organotypic regeneration and almost complete skin recovery.

**Key words:** photodynamic therapy, platelet-rich plasma, radiation skin ulcer, *Staphylococcus aureus*, morphology.

*Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2020;25:338-352. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-338-352*

### ВСТУП

Злоякісні пухлини в XXI столітті є провідною причиною смерті та єдиним найважливішим бар'єром на шляху до збільшення тривалості життя в кожній країні світу [1].

Променева терапія — один із методів лікування хворих зі злоякісними пухлинами різної локалізації, який передбачає застосування іонізуючого випромінювання [2]. У світі, згідно з даними Міжнарод-

### INTRODUCTION

Cancer is the leading cause of death and the single most important barrier to increasing life expectancy in every country worldwide in the 21<sup>st</sup> century [1].

Radiation therapy is one of the methods of treatment of patients with cancer of different localization, which involves the use of ionizing radiation [2]. According to the International Atomic Energy

✉Mykhailo S. Myroshnychenko, e-mail: [msmyroshnychenko@ukr.net](mailto:msmyroshnychenko@ukr.net)

ної агенції з атомної енергії, нараховується понад 7600 центрів променевої терапії [3]. Використання сучасних вискоєфективних схем променевої терапії може супроводжуватися розвитком променевих змін як в організмі в цілому, так і в здорових органах і тканинах, що неминуче потрапляють до зони променевого впливу [4]. Тяжкість будь-яких променевих ушкоджень збільшується з підвищенням дози іонізуючого випромінювання [5].

При проведенні променевої терапії злоякісних пухлин найбільшого впливу зазнає шкіра з підлеглими тканинами [4]. Серед променевих ушкоджень шкіри з підлеглими м'якими тканинами частими є променеві виразки, які, як правило, болючі, нерідко інфікуються та інколи схильні до злоякісного переродження [6].

Показано ефективність застосування фотодинамічної терапії (ФДТ) як засобу, що стимулює загоєння ран шкіри різного генезу [7]. Водночас лікування променевих виразок шкіри — тривалий і складний процес, що потребує міждисциплінарного підходу. З метою пошуку патогенетично-обумовлених ефективних лікувальних заходів даної патології упродовж багатьох років авторами проводяться дослідження з визначення патогенетичних, мікробіологічних, морфофункціональних особливостей променевих виразок шкіри [8], визначено активізацію репаративних процесів у інфікованих променевих виразках шкіри під впливом ФДТ [9].

Пошук ефективних методів лікування променевих виразок шкіри залишається актуальним питанням сьогодення. Лікування променевих виразок передбачає не тільки прискорення темпів їх загоєння, але й повноцінне відновлення первісної структури втраченої частини шкіри. Відомо, що репаративна регенерація може бути повною і неповною. Повна регенерація, або реституція, характеризується заповненням дефекту тканиною, ідентичною загиблій, тоді як при неповній регенерації (субституції) дефект заміщується сполучною тканиною, тобто рубцем. Ідеальна якість загоєння виразок досягається саме за рахунок реституції [10].

## МЕТА

Метою дослідження є визначення в експерименті якості загоєння інфікованих *Staphylococcus aureus* променевих виразок шкіри в умовах проведення ФДТ та використання PRP.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальне дослідження проведено на 95 щурах-самцях лінії WAG шестимісячного віку роз-

Agency, there are more than 7,600 radiation therapy centers in the world [3]. The use of modern highly effective schemes of radiation therapy can be followed by the development of radiation changes in the body as a whole and in healthy organs and tissues, which inevitably fall into the zone of radiation exposure [4]. The severity of any radiation damage is exacerbated with ionizing radiation dose increase [5].

The skin with the underlying tissues is most affected during the radiation therapy of malignant tumors [4]. Radiation ulcers are among the radiation injuries of skin with underlying soft tissues, which are usually painful, often infected, and sometimes prone to malignant transformation [6].

The effectiveness of photodynamic therapy (PDT) as a remedy of stimulating the healing of skin wounds of various origins has been shown [7]. At the same time, the treatment of skin radiation ulcers is a long and complex process requiring an interdisciplinary approach. In order to find a pathogenetically determined effective treatment for this lesions, the authors for many years have conducted the research to determine the pathogenetic, microbiological, and morphofunctional features of radiation skin ulcers [8]. The activation of reparative processes in the infected radiation skin ulcers under the influence of PDT was revealed [9].

The search for effective treatments for the skin radiation ulcers remains a topical issue today. Treatment of radiation ulcers involves not only accelerating the rate of their healing, but also the full restoration of the original structure of the lost part of skin. It is known that reparative regeneration can be complete or incomplete. Complete regeneration, or restitution, is characterized by filling the defect with tissue identical to the dead one, while in case of incomplete regeneration (substitution) the defect is replaced by the connective tissue, i.e. scar. The ideal quality of ulcer healing is achieved through the restitution [10].

## OBJECTIVE

The objective of the study was to determine the quality of healing the skin radiation ulcers infected with *S. aureus* under the PDT administration and PRP use in experiment.

## MATERIALS AND METHODS

The experimental study was performed on 95 male rats of the WAG line 6 months of age from the viva-

ведення віварію ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України». Умови утримання та поводження з тваринами відповідали вимогам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Тварин було розподілено на три групи. До групи 1 увійшло 25 тварин, яким моделювали променево виразку шкіри в ділянці стегна з наступним нанесенням на її поверхню на 7-му добу після опромінення 0,2 мл суспензії референтного штаму (*Staphylococcus aureus*) *S. aureus* (ATCC 25923) (0,5 млн мікробних клітин/см<sup>2</sup>). До групи 2 увійшло 25 тварин з інфікованою *S. aureus* променевою виразкою шкіри, яким через добу після інфікування проводили ФДТ. До групи 3 увійшло 45 тварин з інфікованою *S. aureus* променевою виразкою шкіри, яким через добу після інфікування в першій половині дня проводили ФДТ, а в другій половині дня обколювали периферію ранового дефекту збагаченою тромбоцитами плазмою (platelet rich plasma – PRP).

Моделювання променевої виразки в ділянці верхньої поверхні стегна щурів груп 1–3 проводили за допомогою рентген-терапевтичного апарату TUR-60. Умови опромінення: напруга – 50 кВ, анодний струм – 10 мА, фільтр – 0,6 мм А1, потужність дози – 33,5 Гр/хв.

У групах 2 і 3 ФДТ проводили за допомогою фотонного апарату «Барва-LED/630» з використанням фотосенсибілізатора 0,1 % розчину метиленового синього. Енергетична експозиція за сеанс становила 45 Дж/см<sup>2</sup>. Курс лікування ФДТ складався з двох сеансів з інтервалом 3 доби [7].

У групі 3 отримання PRP було проведено за методикою R. Dhurat та співавт. [11].

Тварини груп 1 і 2 були виведені з експерименту на 14, 21, 30, 37, 52-гу добу (по 5 щурів на кожний експериментальний термін). Тварини групи 3 були виведені з експерименту на 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 45-ту добу (по 5 щурів на кожний експериментальний термін).

Матеріалом для морфологічного дослідження була шкіра з підлеглими м'якими тканинами з ділянки променевого ушкодження. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну. Ущільнення тканин, фіксованих у формаліні, досягалося проведенням через спирти зростаючої концентрації, рідину Нікіфорова (96 % спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ і заливанням у парафін. З блоків було виготовлено серійні зрізи завтовшки 4–5 · 10<sup>-6</sup> м для забарвлення гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за

риум of the State Institution «Institute of Medical Radiology and Oncology named after S.P. Grigoriev NAMS of Ukraine». The conditions of keeping and handling of animals corresponded the requirements of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1986).

The animals were divided into three groups. Group 1 included 25 animals, in whom the a radiation skin ulcer was simulated in the thigh area, followed by application to its surface of 0.2 ml suspension of the reference strain *S. aureus* (ATCC 25923) (0.5 million microbial cells/cm<sup>2</sup>) on day 7 after irradiation. Group 2 included 25 animals with *S. aureus*-infected radiation skin ulcers, in whom the PDT was administered a day after infection contamination. Group 3 included 45 animals with *S. aureus*-infected radiation skin ulcers, in whom the PDT was administered a day after infection in the morning, and the platelet rich plasma (PRP) was manifold injected in periwound area in the afternoon.

Modeling of radiation ulcer in the upper thigh surface in rats of groups 1–3 was performed using an X-ray therapy device TUR-60. Irradiation conditions: voltage – 50 kV, anode current – 10 mA, filter – 0.6 mm Al, dose rate – 33.5 Gy/min.

In groups 2 and 3 the PDT was performed at a photon apparatus «Barva-LED / 630» using the 0.1% methylene blue solution as a photosensitizer. The energy exposure per session was 45 J/cm<sup>2</sup>. The course of PDT treatment consisted of two sessions with an interval of 3 days [7].

In group 3 the PRP was obtained according to the method of R. Dhurat et al. [11].

Animals of groups 1 and 2 were withdrawn from the experiment on days 14, 21, 30, 37, and 52 (5 rats for each experimental period). Animals of group 3 were withdrawn from the experiment on days 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, and 45 (5 rats for each experimental period).

Skin with underlying soft tissues from the area of radiation damage were the material for morphological examination. The material was fixed in 10% formalin solution. The induration of tissues fixed in formalin was achieved by the passing through alcohols of increasing concentration, Nikiforov's liquid (96 % alcohol and diethyl ether in a ratio of 1: 1), chloroform, and pouring into paraffin. Serial sections 4–5 · 10<sup>-6</sup> m thick were made from the blocks for hematoxylin and eosin, picrofuxin according to van



ван Гізоном, за Маллорі. Мікропрепарати досліджували на мікроскопі «Olympus BX-41».

Морфометричне дослідження було проведено на мікроскопі «Olympus BX-41» з використанням програми «Olympus DP-soft version 3.1», у ході якого в рановій порожнині визначали товщину лейкоцитарно-некротичного шару, зони демаркації, шару грануляційної тканини, шару сполучної тканини.

Статистичний аналіз отриманих цифрових даних проводили за допомогою програм Statistica 6.0 та Microsoft Excel 2003. Середні значення показників у групах порівнювали, використовуючи непараметричний *U*-критерій Манна-Уїтні. Відмінності вважали значущими при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У групі 1 при оглядовій мікроскопії в шкірі з підлеглими м'якими тканинами з 14-ї по 52-гу добу в зоні впливу променевого фактору було виявлено виразку великих розмірів, глибина якої доходила до дерми та гіподерми.

Мікроскопічна будова променевої виразки у тварин групи 1 залежала від терміну експерименту. На 14-ту і 21-шу добу вона характеризувалася наявністю двох шарів — лейкоцитарно-некротичного та зони демаркації. Лейкоцитарно-некротичний шар був представлений некротизованими фрагментами епідермісу, дерми, гіподерми з наявністю великої кількості загиблих лейкоцитів. Зона демаркації відділяла некротизовані тканини від неушкоджених тканин. Відомо, що остання має велике значення для захисту організму від проникнення чужорідних антигенів, адже численні лейкоцити валу блокують проникнення в інтактні тканини антигенів зовнішнього середовища, в тому числі і мікроорганізмів [12].

На 30, 37 та 52-гу добу у тварин групи 1 виразка характеризувалася наявністю лейкоцитарно-некротичного шару, демаркаційного лейкоцитарного валу та шару грануляційної тканини. Остання на 30-ту добу була незрілою, однак до 52-ї доби відбувалося її дозрівання, про що свідчило наростання волокнистого компоненту і зменшення судинного та клітинного компонентів. Волокнистий компонент грануляційної тканини з 30-ї по 52-гу добу характеризувався вираженим превалюванням колагенових волокон над еластичними, причому в частині полів зору еластичні волокна не відмічалися.

У групі 1 при морфометричному дослідженні було встановлено, що товщина лейкоцитарно-некротичного шару з 14-ї по 21-шу добу не змінювалася

Gizon, and Mallory staining. The micropreparations were examine through a Olympus BX-41 microscope.

The morphometric study was performed in an Olympus BX-41 microscope using the Olympus DP-version 3.1 software, during which the thickness of leukocyte-necrotic layer, demarcation zone, granulation tissue layer, and connective tissue layer were determined in the wound cavity.

Statistical analysis of the obtained digital data was performed using the Statistica 6.0 and Microsoft Excel 2003 software. The average values in the groups were compared using the non-parametric Mann-Whitney *U*-test. The differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSIONS

In group 1 the assessment microscopy from the 14<sup>th</sup> to the 52<sup>th</sup> day revealed a large ulcer in the skin with underlying soft tissues in the area affected by the radiation. The depth of ulcer reached both dermis and hypodermis.

The microscopic structure of radiation ulcer in animals of group 1 depended on the experiment duration. On the 14<sup>th</sup> and 21<sup>th</sup> day it was characterized by the presence of two layers — leukocyte-necrotic and demarcation zone. The leukocyte-necrotic layer was represented by necrotized fragments of epidermis, dermis, hypodermis with the presence of a large number of dead leukocytes. The demarcation zone separated necrotized tissues from intact ones. It is known that the latter is of great importance for protecting the body from penetration of exogenous antigens, because numerous leukocytes of the shaft do block the penetration of environmental antigens, including microorganisms, into the intact tissue [12].

At days 30, 37, and 52 in group 1 of animals, the ulcer was characterized by the presence of a leukocyte-necrotic layer, a demarcation leukocyte shaft, and a layer of granulation tissue. The latter was immature on the 30<sup>th</sup> day, but by the 52<sup>nd</sup> day it was maturing, as evidenced by the growth of the fibrous component and decrease of vascular and cellular components. The fibrous component of granulation tissue was characterized from the 30<sup>th</sup> to the 52<sup>nd</sup> day by a pronounced predominance of collagen fibers over the elastic ones, and in some fields of view the elastic fibers were not observed.

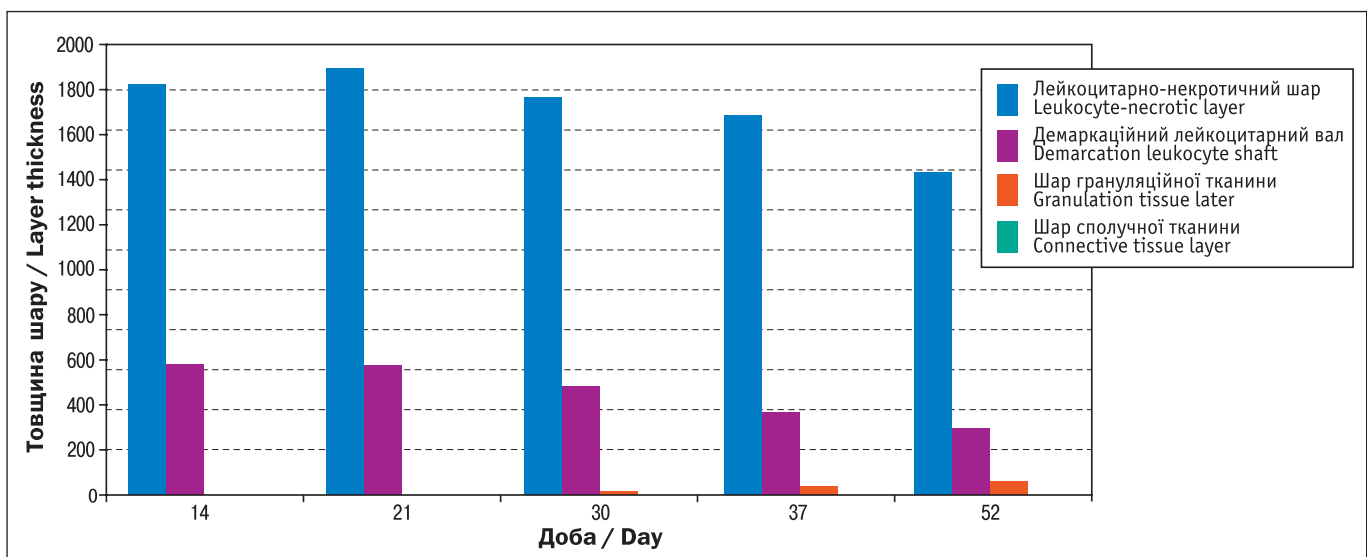
The morphometric study in group 1 showed no change in thickness of the leukocyte-necrotic layer from the 14<sup>th</sup> to the 21<sup>st</sup> day ( $p > 0.05$ ), while from

( $p > 0,05$ ), а з 30-ї по 52-гу добу зменшувалася ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). Зменшення товщини лейкоцитарно-некротичного шару, з нашої точки зору, відбувалося за рахунок розвитку ферментативного протеолізу ферментами, що продукуються різними клітинами, в тому числі й лейкоцитами, а також ферментами мікробного походження. Протеолітичні ферменти прискорюють процес розпаду білків некротизованих клітин до пептидів та амінокислот, сприяючи лізису некротизованих тканин, їх відділенню від ранової поверхні та очищенню рани [13]. З 30-ї по 52-гу добу товщина грануляційної тканини збільшувалася ( $p < 0,05$ ), що є закономірним процесом для загоєння ран. Грануляційна тканина, як відомо, заповнює рановий дефект, з плином часу дозріває і перетворюється на сполучну тканину. Грануляційна тканина також виконує захисну функцію щодо рани, перешкоджаючи проникненню мікробів углиб тканин [14].

В оточуючих променеву виразку епідермісі, дермі, гіподермі та м'язовій тканині було виявлено різні загальнопатологічні процеси. На 14-ту добу в епітеліальному шарі відмічалися атрофічні, дистрофічні та некротичні зміни; в дермі, гіподермі і м'язовій тканині — гемодинамічні порушення, некроз сполучнотканинних волокон, дистрофічні зміни в нервових волокнах, в судинах ознаки васкуліту, дифузна поліморфно-клітинна інфільтрація, представлена лейкоцитами, лімфоцитами і подинокими макрофагами; атрофічні та некротичні зміни придатків шкіри, що розташовувалися в дермі;

the 30<sup>th</sup> to the 52<sup>nd</sup> day it had decreased ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1). The decrease in the leukocyte-necrotic layer thickness, from our point of view, was due to development of enzymatic proteolysis by enzymes produced by various cells, including leukocytes, as well as enzymes of microbial origin. Proteolytic enzymes accelerate the breakdown of proteins of necrotized cells to peptides and amino acids, promoting the lysis of necrotized tissues, their separation from wound surface and wound cleansing [13]. From the 30<sup>th</sup> to the 52<sup>nd</sup> day, the thickness of the granulation tissue increased ( $p < 0.05$ ), which is a natural process for wound healing. Granulation tissue is known to fill the wound defect, maturing over time and turning into connective tissue. Granulation tissue also performs a protective function against the wound, preventing the penetration of microbes into the tissue [14].

Various general pathological processes have been found in the epidermis, dermis, hypodermis, and muscle tissue surrounding the radiation ulcer. On day 14 the atrophic, dystrophic and necrotic changes were observed in epithelial layer. Hemodynamic disorders, necrosis of connective tissue fibers, dystrophic changes in nerve fibers, vascular signs of vasculitis, diffuse polymorphic-cellular infiltration, represented by leukocytes, lymphocytes and single macrophages emerged in the dermis, hypodermis and muscle tissue. Atrophic and necrotic changes of skin appendages located in the dermis were seen



**Рисунок 1.** Морфометричні показники товщини шарів (мкм) інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри стегна щурів-самців лінії WAG (група 1) в динаміці спостереження з 14-ї по 52-гу добу експерименту

**Figure 1.** Morphometric parameters of layer thickness (μm) in *S. aureus*-infected radiation skin ulcer in male rats of the WAG line (group 1); observation period from day 14 to day 52 of the experiment

ішемічні та альтеративні зміни паренхіматозного компоненту м'язового шару. На 21-шу добу порівняно з 14-ю добою, в оточуючих променеву виразку тканинах зростає ступінь вираженості загальнопатологічних процесів, у поліморфно-клітинній інфільтрації з'являлися клітини фібробластичного ряду. На 30, 37 і 52-гу добу порівняно з 21-ю добою виразність загальнопатологічних процесів зменшувалася, розвивалися склеротичні зміни, серед поліморфної клітинної інфільтрації зменшувалася кількість лейкоцитів і зростала кількість лімфоцитів, макрофагів та клітин фібробластичного ряду.

Рановий процес, як відомо, є складним багатоплановим явищем, у якому виділяють три обов'язкові компоненти: пошкодження, запалення і відновлення. У перебігу ранового процесу виділяють три стадії: 1) травматичне запалення, 2) новоутворення грануляційної/сполучної тканини, регенерація епітелію, 3) формування і перебудова рубця [15].

При моделюванні інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри за період з 14-ї по 52-гу добу було виявлено характерні ознаки лише перших двох стадій перебігу ранового процесу. Виявлена особливість полягає у тому, що інфікована *S. aureus* променева виразка шкіри характеризується тривалішим процесом загоєння, що обумовлено, з нашої точки зору, пролонгованою за часом стадією запалення; неактивними процесами очищення рани від некротизованих тканин; млявими процесами утворення і дозрівання грануляційної тканини; виразними гемодинамічними порушеннями і структурними змінами у стінках судин в оточуючих ранову порожнину дермі, гіподермі і м'язовій тканині, що призводять до порушення трофіки цих тканин.

У групі 2 променева виразка на 14-ту добу мала великі розміри, глибина її доходила до дерми або поверхневих відділів гіподерми. Мікроскопічно променева виразка на 14, 21, 30-ту добу характеризувалася наявністю лейкоцитарно-некротичного шару, демаркаційного лейкоцитарного валу, шару грануляційної тканини.

На 37-му добу ранова порожнина була заповнена грануляційною і сполучною тканинами, причому у волокнистому компоненті грануляційної тканини відмічалися потовщені та хаотично розташовані фуксинофільні сполучнотканинні волокна, серед яких визначалися лише колагенові волокна. Виявлені морфологічні особливості волокнистого компонента грануляційної тканини є характерними ознаками патологічних рубців шкіри [16]. Поверхня сформованого регенерату була вкрита стонше-

along with ischemic and alternative changes in the parenchymal component of the muscle layer. The severity of general pathological processes increased in the tissues surrounding the radiation ulcer, and fibroblastic cells appeared in the polymorphic-cell infiltration on day 21, compared with day 14. The severity of general pathological processes on days 30, 37, and 52 decreased, sclerotic changes developed, number of leukocytes decreased within polymorphic cell infiltration and the number of lymphocytes, macrophages and fibroblastic cells increased compared with the day 21.

The wound process is known to be a complex multifaceted phenomenon in which three essential components are distinguished: damage, inflammation, and recovery. During the wound process, there are three stages: 1) traumatic inflammation, 2) granulation/connective tissue appearance and epithelial regeneration, 3) scar formation and reconstruction [15].

In the simulation of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer the characteristic signs of only the first two stages of wound process were revealed for the period from day 14 to day 52. The identified feature was that the *S. aureus*-infected skin radiation ulcer features a longer healing process, which is due, in our view, to a prolonged stage of inflammation, inactive processes of wound cleansing from necrotized tissues, sluggish processes of granulation tissue formation and maturation, pronounced hemodynamic disturbances and structural changes in the wall of blood vessels in the dermis, hypodermis and muscle tissue surrounding the wound cavity, all leading to disorders of the trophism of these tissues.

In group 2 on the 14<sup>th</sup> day the radiation ulcer was large, its depth reached dermis or superficial parts of the hypodermis. Microscopically the radiation ulcer on the 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, and 30<sup>th</sup> days was characterized by the presence of leukocyte-necrotic layer, demarcation leukocyte shaft, and layer of granulation tissue.

On day 37 the wound cavity was filled with granulation and connective tissues, and there were thickened and chaotically located fuchsinophilic connective tissue fibers in the fibrous component of the granulation tissue, among which only collagen fibers were determined. The revealed morphological features of the fibrous component of granulation tissue are characteristic features of skin pathological scars [16]. Surface of the formed regenerate was covered with a thinned or thickened epidermis, but



ним або потовщеним епідермісом, однак у частині полів зору він не спостерігався. Відомо, що на третій стадії загоєння рани відбуваються процеси рубцювання та епітелізація рани, причому ступінь виразності цих процесів залежить один від одного. У фізіологічних умовах відзначено, що одночасно з дозріванням грануляційної тканини відбувається епітелізація її поверхні. Якщо епітелізація затримується в часі, а гранулювання і дозрівання рубцевої тканини прискорюється, формується патологічний рубець [13].

На 52-гу добу ранова порожнина була повністю заповнена сполучною тканиною, волокна якої розташовувалися не паралельно поверхні шкіри, а хаотично, тобто мали різне спрямування, причому в частині полів зору серед сполучнотканинних волокон були виявлені тільки грубоволокнисті колагенові волокна. Місцями сформована сполучна тканина розташовувалася вище рівня навколишньої шкіри і була вкрита стоншеним епідермісом, в якому були відсутні характерні шари. У сформованому регенераті придатки шкіри не визначалися (рис. 2). Виявлені нами морфологічні особливості в літературі описані як ознаки, характерні для патологічних шкірних рубців [16].

При морфометричному дослідженні в групі 2 було встановлено зменшення ( $p < 0,05$ ) товщини лейкоцитарно-некротичного шару і зони демаркації з 14-ї по 30-ту добу, збільшення ( $p < 0,05$ ) товщини шару грануляційної тканини з 14-ї по 37-му добу і сполучної тканини з 37-ї по 52-гу добу (рис. 3).

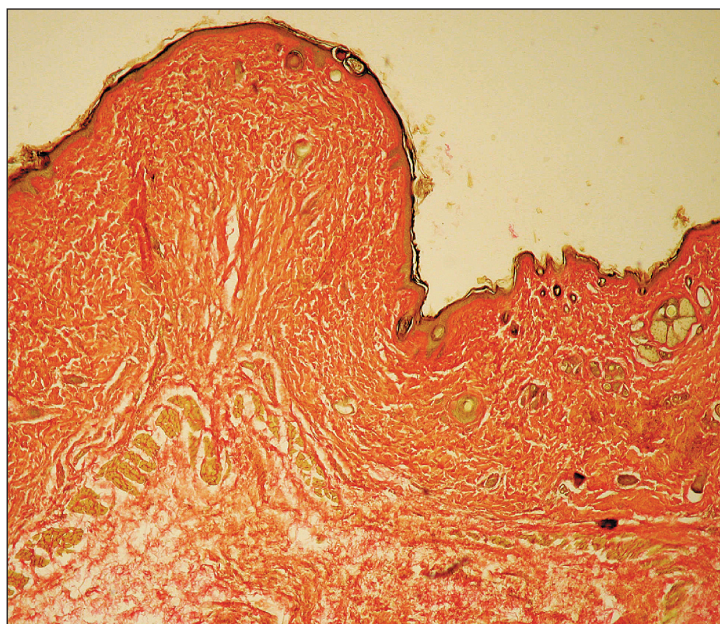
У тварин групи 2 в оточуючих променеву виразку епідермісі, дермі, гіподермі, м'язовій тканині були відзначені різні загальнопатологічні процеси.

in some fields of view it was not observed. It is known that there are processes of scarring and epithelialization of the wound in the third stage of wound healing, and the degree of intensity of these processes depends on each other. Under physiological conditions it was noted that the epithelialization of granulation tissue surface occurs simultaneously with its maturation. If epithelialization was delayed in time, and granulation and maturation of scar tissue were accelerated, it had led to formation of a pathological scar [13].

On day 52 the wound cavity was completely filled with connective tissue, the fibers of which were located not parallel to the skin surface, but chaotically, i.e. had a different direction, and in some fields of view only coarse collagen fibers were found among the connective tissue fibers. The formed connective tissue was patchily located above the level of surrounding skin being covered with a thinned epidermis, in which there were no characteristic layers. In the formed regenerate the skin appendages were not defined (fig. 2). Morphological features identified by us were described in the literature as signs characteristic of pathological skin scars [16].

Morphometric study in group 2 revealed a decrease ( $p < 0.05$ ) in the thickness of leukocyte-necrotic layer and demarcation zone from day 14 to day 30, an increase ( $p < 0.05$ ) in the thickness of granulation tissue layer from day 14 till day 37 and of connective tissue from day 37 till day 52 (Fig. 3).

A range of general pathological processes were observed in the epidermis, dermis, hypodermis, and muscle tissue surrounding the radiation ulcer in

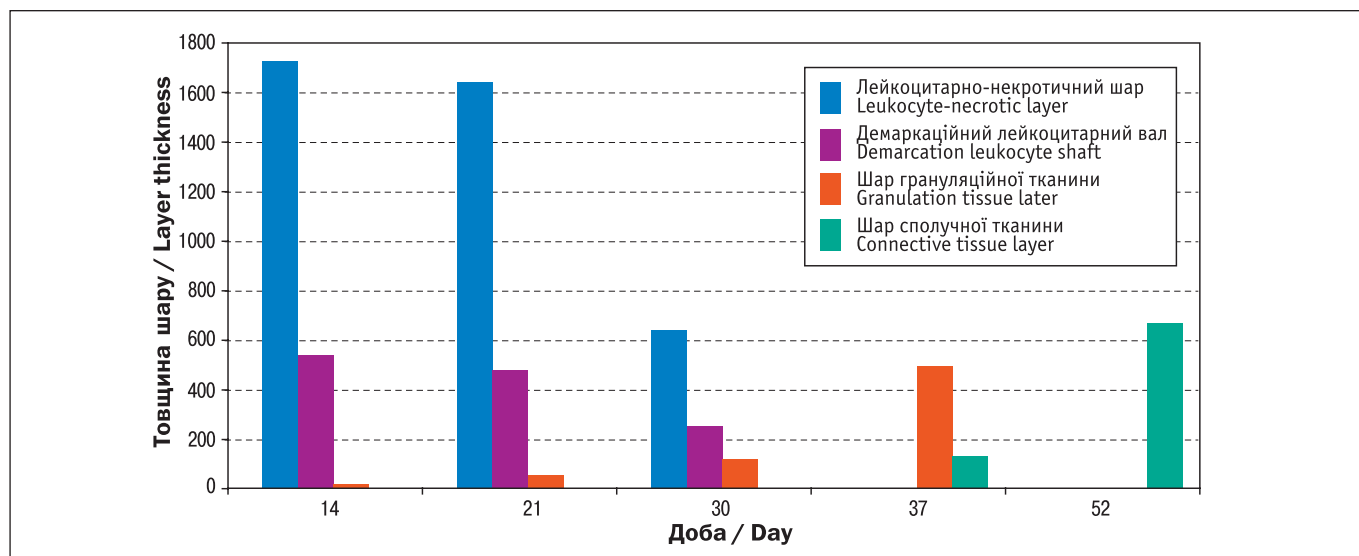


**Рисунок 2.** Препарат інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри стегна щура із застосуванням ФДТ (група 2), 52-га доба експерименту

Сформована сполучна тканина розташовується вище рівня навколишньої шкіри і вкрита стоншеним епідермісом, в якому відсутні характерні шари. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном,  $\times 40$ .

**Figure 2.** Preparation of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer of the rat thigh upon PDT administration (group 2), day 52 of the experiment  
The formed connective tissue was located above the level of surrounding skin and was covered with a thinned epidermis with no characteristic layers in it. Picrofuchsin staining by van Gieson,  $\times 40$ .





**Рисунок 3.** Морфометричні показники товщини шарів (мкм) інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри стегна у щурів-самців лінії WAG із застосуванням ФДТ (група 2) в динаміці спостереження з 14-ї по 52-ту добу експерименту

**Figure 3.** Morphometric parameters of layer thickness (μm) in *S. aureus*-infected radiation skin ulcer in male WAG rats upon PDT administration (group 2); observation since day 14 till day 52 of experiment

На 14-ту добу в епітеліальному пласті відмічалися альтеративні зміни; в дермі, гіподермі, м'язовій тканині ідентифікувалися гемодинамічні порушення, альтеративні зміни сполучнотканинних волокон, набрякові та дистрофічні зміни нервових волокон, запальні зміни у стінках судин, поліморфна клітинна інфільтрація, що складалася з лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів, клітин фібробластичного диферону; атрофічні та альтеративні зміни придатків шкіри, що розташовувалися в дермі; ішемічні, дистрофічні та некротичні зміни м'язових волокон м'язового шару. На 21-шу добу порівняно з 14-ю добою потовщений епідерміс за рахунок гіперпластичних процесів підростав під лейкоцитарно-некротичний шар або зону демаркації, що призводило до їх відділення від ранової поверхні; у дермі, гіподермі і м'язовій тканині зменшувався ступінь вираженості гемодинамічних змін і запальних змін у стінках судин, починали розвиватися склеротичні зміни, серед клітинних елементів збільшувалася кількість клітин фібробластичного диферону, лімфоцитів, макрофагів та зменшувалася кількість лейкоцитів. На 30-ту добу порівняно з 21-ю добою ступінь вираженості гіперпластичних процесів у епідермісі зростав; у дермі, гіподермі, м'язовій тканині ознаки порушення кровообігу зменшувалися, наростали склеротичні зміни, серед клітинної інфільтрації збільшувалася кількість клітин фібробластичного диферону, зменшувалася кількість лімфоцитів, макрофагів. На 37-ту добу порівняно з 30-ю добою у крайових відділах ра-

group 2 of animals. On the 14<sup>th</sup> day there were alternative changes in the epithelial layer, while hemodynamic disorders, alternative changes of connective tissue fibers, edematous and dystrophic changes of nerve fibers, inflammatory changes in vessel wall, polymorphic cellular infiltration consisting of leukocytes, lymphocytes, macrophage cells, and fibroblastic diferon cells were identified in the dermis, hypodermis, muscle tissue. Atrophic and alternative changes of skin appendages located in the dermis, ischemic, dystrophic and necrotic changes in the muscle fibers of the muscle layer were found. On the 21<sup>st</sup> day compared with the 14<sup>th</sup> day, the thickened epidermis due to hyperplastic processes grew under the leukocyte-necrotic layer or demarcation zone, which led to their separation from wound surface. Severity of hemodynamic and inflammatory changes in the blood vessel wall in dermis, hypodermis and muscle tissue decreased, sclerotic changes began to develop, number of fibroblastic diferon cells, lymphocytes, macrophages increased along with and white blood cell number decreased. On the 30<sup>th</sup> day compared with the 21<sup>st</sup> day the severity of hyperplastic processes in epidermis increased. Signs of circulatory disorders in the dermis, hypodermis, muscle tissue decreased, sclerotic changes increased, number of fibroblastic diferon cells among the cellular infiltration increased, number of lymphocytes and macrophages decreased. On the 37<sup>th</sup> day compared with the 30<sup>th</sup> day the thickness of epider-

ни товщина епідермісу збільшувалася, він утворював акантотичні вросання в дерму; у дермі, гіподермі, м'язовій тканині склеротичні зміни наростали, поліморфно-клітинна інфільтрація набувала дрібно-вогнищевих характеру і була представлена клітинами фібробластичного диферону, поодинокими лімфоцитами і макрофагами. На 52-гу добу порівняно з 37-ю добою наростали склеротичні зміни в дермі, гіподермі і м'язовій тканині.

Проведений нами аналіз отриманих даних у групі 2 порівняно з групою 1 дозволив зробити висновок щодо активізації та прискорення загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами в умовах проведення ФДТ. Процес загоєння виразки в групі 2 за період з 14-ї по 52-ту добу експерименту проходив усі три характерні для ранового процесу стадії [15], в результаті чого формувалася патологічний (гіпертрофічний або келоїдний) рубець шкіри. Отримані результати в групі 2 актуалізують проблему пошуку ефективних методів лікування променевих виразок, які б сприяли повноцінному відновленню шкіри як органу.

У групі 3, як і в попередніх двох групах, будова променевої виразки залежала від терміну експерименту. На 10, 13, 16 і 19-ту добу променева виразка характеризувалася наявністю лейкоцитарно-некротичного шару, зони демаркації, шару грануляційної тканини та шару сполучної тканини. На 22-гу добу ранова порожнина була заповнена грануляційною та сполучною тканинами, була вкрита потовщеним епідермісом, що спостерігалось практично в усіх полях зору. На 25, 28, 31 та 45-ту добу ранова порожнина була заповнена сполучною тканиною, в якій з часом збільшувалася кількість придатків шкіри (рис. 4). Поверхня сполучної тканини була повністю вкрита епідермісом, який мав поширену організацію і утворював акантотичні вросання. Сформований регенерат розташовувався на рівні інтактної шкіри. У сполучній тканині серед волокон переважали колагенові волокна над еластичними, які розташовувалися переважно паралельно поверхні шкіри. Цікаво те, що в поверхневих шарах сформованого регенерату еластичних волокон було більше, порівняно з глибокими відділами.

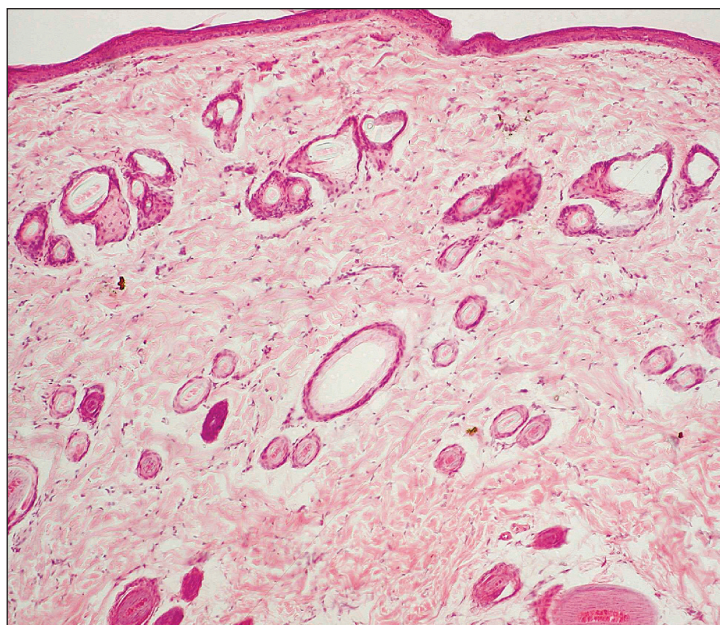
Під час морфометричного дослідження в групі 3 з 10-ї по 19-ту добу було відзначено зменшення ( $p < 0,05$ ) товщини лейкоцитарно-некротичного шару та демаркаційного лейкоцитарного валу, з 10-ї по 22-ту добу – збільшення ( $p < 0,05$ ) товщини шару грануляційної тканини (рис. 5). Товщина шару сполучної тканини збільшувалася ( $p < 0,05$ ) з

mis in the marginal parts of the wound increased, forming the acanthotic ingrown into the dermis. The sclerotic changes in the marginal parts of the wound exacerbated. The polymorphic-cellular infiltration acquired a microfocal character and was represented by fibroblastic diferon cells, single lymphocytes and macrophages. At day 52 the sclerotic changes in dermis, hypodermis, and muscle tissue increased compared to day 37.

Our analysis of the obtained data in group 2 vs. group 1 allowed us to state the activation and acceleration of healing of *S. aureus*-infected radiation ulcer of the skin with underlying soft tissues under the PDT administration. The process of ulcer healing in group 2 for the period from the 14<sup>th</sup> to the 52<sup>nd</sup> day of the experiment has passed all three stages characteristic for the wound process [15] resulting in the formation of pathological (hypertrophic or keloid) skin scar. Results obtained in group 2 actualize the problem of finding effective treatments for radiation ulcers that would contribute to the full recovery of skin as an organ.

In group 3, as in the previous two groups, the structure of radiation ulcer depended on the experiment duration. On days 10, 13, 16, and 19 the radiation ulcer was characterized by the presence of a leukocyte-necrotic layer, demarcation zone, layer of granulation tissue, and layer of connective tissue. On day 22 the wound cavity was filled with granulation and connective tissue, being covered with thickened epidermis, which was observed in almost all fields of vision. On days 25, 28, 31, 45 the wound cavity was filled with connective tissue, in which the number of skin appendages increased over time (Fig. 4). The surface of connective tissue was completely covered with epidermis, which had a layered organization and formed the acanthotic ingrowth. The formed regenerate was located at the level of intact skin. Collagen fibers prevailed in the connective tissue over elastic ones, which were located mainly parallel to the skin surface. Noteworthy is that there were elastic fibers in the surface layers of the formed regenerate compared to the deep sections.

The morphometric study revealed a decrease ( $p < 0.05$ ) in the thickness of the leukocyte-necrotic layer and the demarcation leukocyte shaft in group 3 from the day 10 to the day 19. An increase ( $p < 0.05$ ) in the thickness of the granulation tissue layer was seen from the day 10 to the day 22 (Fig. 5). Thickness of the connective tissue layer increased

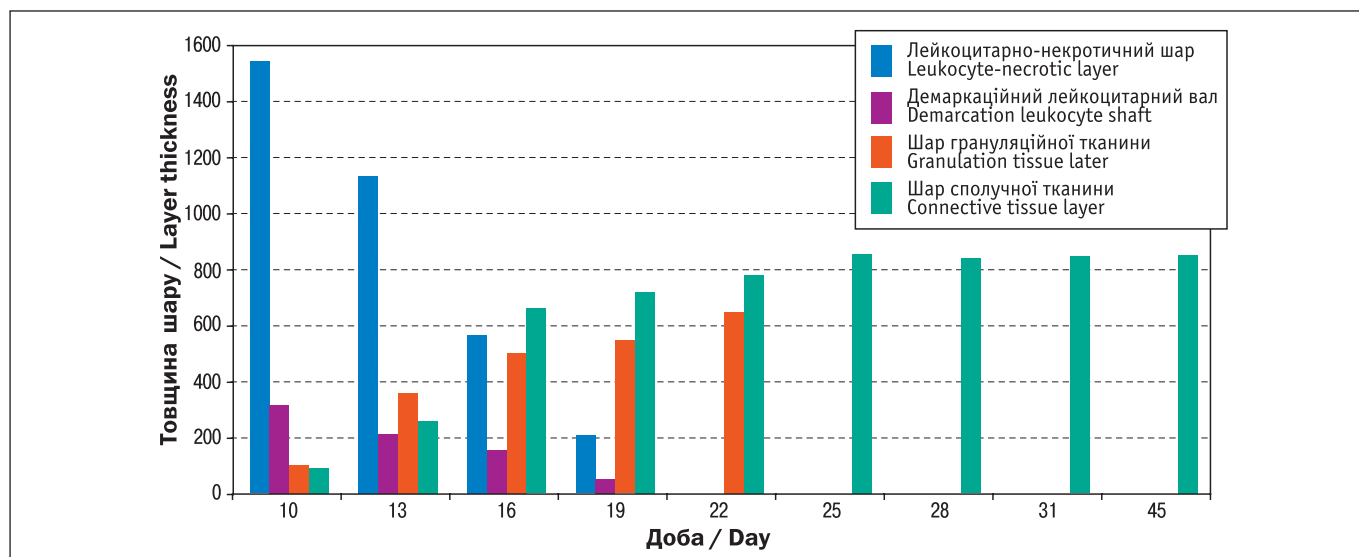


**Рисунок 4.** Препарат інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри стегна щура із застосуванням ФДТ та PRP (група 3); 45-та доба експерименту

Регенерат, що характеризується наявністю придатків шкіри; поверхня регенерату повністю вкрита епідермісом, який має пошарову організацію; забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 100$

**Figure 4.** Specimen of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer of the thigh of rats under PDT and PRP administration (group 3); day 45 of the experiment.

Regenerate, characterized by the presence of skin appendages; the surface is completely covered with epidermis, which has a layered organization, hematoxylin and eosin staining,  $\times 100$



**Рисунок 5.** Морфометричні показники товщини шарів (мкм) інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри стегна у щурів-самців лінії WAG із застосуванням ФДТ та PRP (група 3) в динаміці спостереження з 14-ї по 45-ту добу експерименту

**Figure 5.** Morphometric indices of layer thickness ( $\mu\text{m}$ ) of *S. aureus*-infected radiation ulcer of the femoral skin in male WAG rats under PDT and PRP administration (group 3); observation since day 14 till day 45 of experiment

10-ї по 25-ту добу та не змінювалася ( $p > 0,05$ ) з 28-ї по 45-ту добу.

В оточуючих ранову порожнину епідермісі, дермі, гіподермі, м'язовій тканині були відмічені різні загальнопатологічні процеси, ступінь вираженості яких залежав від терміну експерименту. На 10-ту добу в епідермісі розвивалися альтеративні зміни та гіперпластичні процеси; в дермі, гіподермі, м'язовій тканині були виявлені гемодинамічні порушення, альтеративні зміни сполучнотканинних волокон, дистрофічні зміни нервових волокон, запальні зміни у стінках судин,

( $p < 0,05$ ) from the day 10 to the day 25 and did not change ( $p > 0,05$ ) from the day 28 to the day 45.

Various general pathological processes were observed in the epidermis, dermis, hypodermis, and muscle tissue surrounding the wound cavity, the severity of which depended on the duration of the experiment. On the day 10, alternative changes and hyperplastic processes had developed in epidermis. Hemodynamic disorders, alternative changes of connective tissue fibers, dystrophic changes of nerve fibers, inflammatory changes in the walls of blood vessels, polymorphic-cellular infiltration consisting of leukocytes,



поліморфно-клітинна інфільтрація, що складалася з лейкоцитів, лімфоцитів, макрофагів і клітин фібробластичного ряду; атрофічні та альтеративні зміни придатків шкіри; альтеративні зміни паренхіматозного компоненту м'язового шару. На 13-ту добу порівняно з 10-ю добою в епідермісі наростали гіперпластичні процеси, відмічалось формування акантотичних вrostань у дерму; в дермі, гіподермі, м'язовій тканині зменшувався ступінь вираженості гемодинамічних порушень і альтеративних змін, зменшувалася поліморфна клітинна інфільтрація, що складалася з клітин фібробластичного ряду, лімфоцитів, макрофагів, розвивалися склеротичні зміни. На 16-ту та 19-ту добу порівняно з 13-ю добою в епідермісі наростали гіперпластичні процеси і збільшувалася кількість акантотичних вrostань у дерму; в дермі, гіподермі, м'язовій тканині зменшувався ступінь вираженості гемодинамічних порушень і альтеративних змін, наростали склеротичні зміни, поліморфно-клітинна інфільтрація набувала осередкового характеру і була представлена клітинами фібробластичного ряду, макрофагами і лімфоцитами. На 22-гу і 25-ту добу відмічалися подібні до 19-ї доби зміни, ступінь вираженості яких зменшувався, за винятком склеротичних змін, що наростали. На 28-му добу порівняно з 25-ю добою наростали склеротичні зміни. На 31 і 45-ту добу порівняно з 28-ю добою наростали склеротичні зміни, з'являлися ознаки регенерації придатків шкіри.

Проведене нами дослідження показало, що загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри з підлеглими м'якими тканинами в умовах проведення ФДТ в поєднанні з обколюванням периферії рани PRP за період з 10-ї по 45-ту добу експерименту проходить всі три стадії ранового процесу [15], внаслідок чого створюються умови для прояву органотипової регенерації шкіри. Остання, як відомо, є одним із видів регенерації, коли дефект органу заміщується регенератом, відповідним будові органу [17].

Під час подальшого аналізу отриманих даних у групах 2 і 3 було відзначено значне прискорення процесів загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри в умовах проведення комбінованої місцевої терапії, тобто ФДТ разом з обколюванням рани PRP, порівняно з використанням однієї ФДТ. Таким чином, «акцент» регенераторного процесу в умовах проведення комбінованої місцевої терапії в групі 3 був спрямований на прискорення темпів загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки і відновлення первісної структури втраченої частини шкіри.

lymphocytes, macrophages and fibroblast cells were found in the dermis, hypodermis, muscle tissue. Atrophic and alternative changes of skin appendages and alternative changes in parenchymal component of the muscle layer were seen. On the day 13, compared with the day 10, hyperplastic processes increased in the epidermis. Formation of acanthotic ingrown to the dermis was noted. Severity of hemodynamic disorders and alternative changes in the dermis, hypodermis, muscle tissue decreased, along with the decrease of polymorphic cellular infiltration, consisting of fibroblastic cells, lymphocytes, macrophages, developed sclerotic changes. On the days 16 and 19, compared with the day 13, hyperplastic processes in epidermis was intensified and the number of acanthotic growths in the dermis increased. Intensity of hemodynamic disorders and alternative changes in the dermis, hypodermis, muscle tissue decreased, along with activation of sclerotic changes. Polymorphic-cell infiltration became focal, being represented by fibroblastic cells, macrophages and lymphocytes. On the days 22 and 25 there were changes similar to the day 19 day, the intensity of which decreased, except for the increasing sclerotic changes. On the day 28, compared with the day 25, sclerotic changes increased. On the days 31 and 45, compared with the day 28, sclerotic changes increased, and there were signs of regeneration of skin appendages.

Our study showed that the healing of *S. aureus*-infected radiation ulcer of the skin with underlying soft tissues under PDT administration in combination with PRP periwound injections for the period from the day 10 to the day 45 of experiment goes through all three stages of the wound process [15], resulting in conditions for the manifestation of organotypic skin regeneration. The latter is known to be one of the types of regeneration, when the organ defect is replaced by a regenerate corresponding to the organ structure [17].

During the further analysis of the obtained data in groups 2 and 3, a significant acceleration of the healing processes of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer was observed under the conducted combination topical therapy, i.e. PDT together with PRP periwound injections, compared with PDT administration alone. Thus, the «emphasis» of regenerative process under combination local therapy in group 3 was focused at accelerating the healing rate of *S. aureus*-infected radiation ulcer and restoring the original structure of the lost part of the skin.

Прискорення процесів загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри в групах 2 і 3 відбувалося за рахунок позитивних ефектів ФДТ та PRP.

ФДТ активізувала процеси очищення рани від некротизованих тканин; зменшувала запальні зміни в осередку ушкодження за рахунок антибактеріальних властивостей [18]; стимулювала процеси росту, дозрівання грануляційної тканини з перетворенням її в сполучну тканину; зменшувала ступінь вираженості гемодинамічних, ішемічних та альтеративних змін в оточуючих ранову порожнину дермі, гіподермі, м'язовій тканині. ФДТ у крайових відділах рани стимулювала проліферативні процеси в епідермісі, що призводило до потовщення даного шару та формування ним акантотичних вrostань у підлеглу тканину. З акантотичними вrostаннями епітелію в пренатальному онтогенезі пов'язано формування шкірних дериватів, тому поява здатності до утворення випинань епідермісом, що регенерує, розцінюється багатьма вченими як реалізація морфогенетичних потенцій ранового епідермісу в нових умовах [19, 20].

Виявлена стимуляція процесів загоєння інфікованої променевої виразки шкіри в умовах використання PRP обумовлена наявними в ній адгезивними молекулами, цитокінами та факторами росту (інсуліноподібний фактор росту, тромбоцитарний фактор росту, трансформуючий фактор росту- $\beta$ , епідермальний фактор росту, ангіогенний фактор росту, фактор росту фібробластів, фактор росту ендотелію судин) [21].

## ВИСНОВКИ

1. Фотодинамічна терапія активізує і прискорює процеси загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри та призводить до формування патологічного рубця (гіпертрофічного або келоїдного).
2. Процеси загоєння інфікованої *S. aureus* променевої виразки шкіри відбуваються більш активно в умовах проведення фотодинамічної терапії в поєднанні з обколюванням периферії рани збагаченою тромбоцитами плазмою, порівняно з однією фотодинамічною терапією, та закінчуються органотиповою регенерацією з практично повним відновленням первісної структури втраченої частини шкіри.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram et al. *CA Cancer J. Clin.* 2018. Vol. 68, no 6. P. 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.

Acceleration of healing processes of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer in groups 2 and 3 was due to the positive effects of PDT and PRP.

PDT administration resulted in the intensification of the wound cleansing from necrotized tissues, reduce of inflammatory changes in the lesion due to antibacterial properties [18], stimulated the processes of growth, maturation of granulation tissue with its transformation into connective tissue, reduced the severity of hemodynamic, ischemic and alternative changes in dermis, hypodermis, and muscle tissue surrounding the wound cavity. PDT in the marginal parts of the wound stimulated proliferative processes in epidermis, which led to the thickening of this layer and formation of acanthotic ingrowth into the underlying tissue. Acanthotic epithelial ingrowth in prenatal ontogenesis is associated with the formation of skin derivatives, so the emergence of the ability to form protrusions of the regenerating epidermis is regarded by many scientists as the realization of morphogenetic potentials of wound epidermis under the new conditions [19, 20].

The revealed stimulation of healing processes of infected radiation skin ulcer under PRP administration is caused by the available adhesive molecules, cytokines and growth factors, namely the insulin-like growth factor, platelet-derived growth factor, transforming growth factor- $\beta$ , epidermal growth factor, angiogenic growth factor, and vascular endothelial growth factor [21].

## CONCLUSIONS

1. Photodynamic therapy activated and accelerated the healing process of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer and led to the formation of a pathological (hypertrophic or keloid) scar.
2. The healing processes of *S. aureus*-infected radiation skin ulcer under the photodynamic therapy administration in combination with platelet-enriched plasma periwound injections occurred more actively compared to administration of photodynamic therapy alone, and ended with organotypic regeneration with almost complete restoration of the original part.

## REFERENCES

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018;68(6):394-424. doi: 10.3322/caac.21492.

2. Минайло И. И., Артемова Н. А., Демешко П. Д. Лучевая терапия в медицинской практике. *Здравоохранение*. 2017. № 1. С. 35–43.
3. Radiotherapy in cancer care: facing the global challenge / ed. by E. Rosenblatt, E. Zubizarreta. Vienna : International atomic energy agency, 2017. 544 p.
4. Семикоз Н. Г., Селезнев К. Г., Дубровина И. В. Оценка эффективности применения геля, содержащего биологически активные вещества медицинской пиявки, для профилактики и лечения лучевых эпителицитов у больных раком вульвы. *Онкология*. 2001. № 3 (2–3). С. 163–165.
5. Отдаленные осложнения лучевой терапии у больных со злокачественными новообразованиями / И. А. Крячок, Е. О. Ульяновченко, Т. В. Кадникова и др. *Клиническая онкология*. 2017. № 4(28). С. 59–62.
6. Клинико-морфологическая характеристика повреждений кожи и подкожно-жировой клетчатки после хирургического лечения и лучевой терапии у больных раком молочной железы (обзор литературы) / Э. Э. Топузов, Т. Т. Агишев, А. А. Божок и др. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2017. № 13 (1). С. 25–33.
7. Contribution of photodynamic therapy in wound healing: a systematic review / V. Nesi-Reis, D. S. S. L. Lera-Nonose, J. Oyama et al. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2018. Vol. 21. P. 294–305. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.12.015.
8. Тканинні імунні клітини та їх роль у процесах загоєння інфікованих променевих виразок при впливі фотодинамічної терапії (експериментальне дослідження) / М. В. Красносельський, Л. І. Симонова, В. З. Гертман, О. С. Пушкар, Т. С. Завадська. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2019. Вип. 24. С. 250–260.
9. Красносельский Н. В., Симонова Л. И., Гертман В. З., Пушкар Е. С. Влияние фотодинамической терапии на заживление лучевой язвы кожи, инфицированной *Pseudomonas aeruginosa*. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2017. Вип. 22. С. 202–207.
10. Аруин Л. И. Качество заживления гастродуоденальных язв: функциональная морфология, роль методов патогенетической терапии. *Сучасна гастроентерологія*. 2013. № 5(73). С. 92–103.
11. Dhurat R., Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 2014. Vol. 7, Iss. 4. P. 189–197. doi: 10.4103/0974-2077.150734.
12. Мяделец О. Д. Клеточные механизмы барьерно-защитных функций кожи и их нарушения при кожной патологии. Витебск : Изд-во Витебского государственного медицинского университета, 2000. 283 с.
13. Биохимические механизмы заживления ран / О. В. Галимов, С. Р. Туйсин, Т. З. Закиев и др. *Башкирский химический журнал*. 2008. № 15 (3). С. 82–83.
14. Заживление эксцизионных кожных ран у мышей в присутствии матриц из плазмы крови / О. А. Тихвинская, Н. А. Волкова, Е. Ю. Рогульская и др. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018. № 4 (2/147). С. 307–312.
15. Vlasov O. O., Kovalov G. O., Myroshnychenko M. S. Morphological features of a cold skin wound under the influence of an extract of cryopre-
2. Minailo II, Artemova NA, Demeshko PD. [Radiation therapy in medical practice]. *Healthcare*. 2017;1:35-43. Russian.
3. Rosenblatt E, Zubizarreta E, editors. Radiotherapy in cancer care: facing the global challenge. Vienna: International atomic energy agency; 2017. 544 p.
4. Semikoz NG, Seleznev KG, Dubrovina IV. [Evaluation of the effectiveness of the gel containing biologically active substances of medicinal leeches for the prevention and treatment of radial epithelial cells in patients with vulvar cancer]. *Oncology*. 2001;3(2-3):163-165. Russian.
5. Kryachok IA, Ulyanchenko EO, Kadnikova TV, et al. [Remote complications of radiation therapy in patients with malignant neoplasms]. *Clinical Oncology*. 2017;4(28):59-62. Russian.
6. Topuzov EE, Agishev TT, Bozhok AA, et al. [Clinical and morphological characteristics of damage to the skin and subcutaneous fat after surgery and radiation therapy in patients with breast cancer (literature review)]. *Tumor Fem Reprod Syst*. 2017; 13(1):25-33. Russian.
7. Nesi-Reis V, Lera-Nonose DSSL, Oyama J, Silva-Lalucci MPP, Demarchi IG, Aristides SMA, et al. Contribution of photodynamic therapy in wound healing: a systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;21:294-305. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.12.015.
8. Krasnoselsky MV, Simonova LI, Gertman VZ, Pushkar OS, Zavadskaya TS. [Tissue immune cells and their role in the healing processes of infected radiation ulcers under the influence of photodynamic therapy (experimental study)]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2019;24:250-260. Ukrainian.
9. Krasnoselsky NV, Simonova LI, Gertman VZ, Pushkar ES. [Influence of photodynamic therapy on the healing of radiation ulcers of the skin infected with *Pseudomonas aeruginosa*]. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2017;22:202-207. Russian.
10. Aruin LI. [Quality of healing of gastroduodenal ulcers: functional morphology, the role of methods of pathogenetic therapy]. *Contemp Gastroenterol*. 2013;5(73):92-103. Russian.
11. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg*. 2014;7(4):189-197. doi: 10.4103/0974-2077.150734.
12. Myadelets OD. [Cellular mechanisms of barrier-protective functions of the skin and their disorders in skin pathology]. Vitebsk: Publishing House of Vitebsk State Medical University; 2000. 283 p. Russian.
13. Galimov OV, Tuisin SR, Zakiev TZ, et al. [Biochemical mechanisms of wound healing]. *Bashkir Chemical Journal*. 2008; 15(3):82-83. Russian.
14. Tikhvinskaya OA, Volkova NA, Rogulskaya EYu, et al. [Healing of excisional skin wounds in mice in the presence of matrices from blood plasma]. *Bull Probl Biol Med*. 2018;4(2/147):307-312. Russian.



- served skin fragments of piglets (experimental study). *Wiadomosci Lekarskie*. 2020. No. 73(2). P. 306–311.
16. Байтингер В. Ф., Пайтян К. Г. Морфофункциональные особенности патологических кожных рубцов: состояние вопроса. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2013. № 1 (44). С. 28–34.
  17. Бобр О. А., Мяделец О. Д., Дубовский В. В. Динамика популяции тучных клеток в течении раневого процесса у крыс, 3 подвергнутых гипобиотическим состояниям (голодание, гипотермия). *Вестник ВГМУ*. 2006. № 5 (4). С. 21–27.
  18. Застосування антибактеріальної фотодинамічної терапії при лікуванні інфікованих променевих ушкоджень шкіри в експерименті / Л. І. Сімонова-Пушкар, Н. І. Скляр, В. З. Гертман та ін. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2015. № 3 (68). С. 34–39.
  19. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М. : Медицина, 1981. 312 с.
  20. Vlasov O. O., Kovalov G. O., Myroshnychenko M. S. Morphological assessment of wound healing after creodestruction of skin using an aqueous colloidal solution of C60 fullerenes. *Wiadomosci Lekarskie*. 2020. No. 73 (4). P. 642–647.
  21. Малик С. В., Рибалка Я. В., Осипов О. С., Верба А. В. Оптимізація лікування хворих з приводу хронічних ран. *Клінічна хірургія*. 2017. № 10. С. 49–50.
  15. Vlasov OO, Kovalov GO, Myroshnychenko MS. Morphological features of a cold skin wound under the influence of an extract of cryopreserved skin fragments of piglets (experimental study). *Wiadomosci Lekarskie*. 2020. No. 73(2). P. 306–311.
  16. Baitinger VF, Paityan KG. [Morphofunctional features of pathological skin scars: the state of the issue]. *Iss Reconstruct Plastic Surg*. 2013;1(44):28–34. Russian.
  17. Bobr OA, Myadelets OD, Dubovsky W. [Population dynamics of mast cells during the wound process in rats subjected to hypobiotic conditions (starvation, hypothermia)]. *Bull VSMU*. 2006;5(4):21–27. Russian.
  18. Simonova-Pushkar LI, Sklyar NI, Gertman VZ, et al. [The use of antibacterial photodynamic therapy in the treatment of infected radiation skin lesions in experiment]. *Exp Clin Med*. 2015;3(68): 34–39. Ukrainian.
  19. Serov W, Shekhter AB. [Connective tissue (functional morphology and general pathology)]. Moscow: Meditsina, 1981. 312 p. Russian.
  20. Vlasov OO, Kovalov GO, Myroshnychenko MS. Morphological assessment of wound healing after creodestruction of skin using an aqueous colloidal solution of C60 fullerenes. *Wiadomosci Lekarskie*. 2020;73(4):642–647.
  21. Malik SV, Rybalka JV, Osipov OS, Verba AV. [Optimization of treatment of patients with chronic wounds]. *Clin Surg*. 2017;10: 49–50. Ukrainian.

## ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

**Красносельський Микола Віленович**, доктор медичних наук, професор, директор Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків

**Пушкар Олена Сергіївна**, лікар відділення клінічної онкології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків

**Сімонова Лариса Іванівна**, доктор медичних наук, професор, головний науковий співробітник лабораторії радіаційної онкології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків

**Мирошніченко Михайло Сергійович**, доктор медичних наук, доцент, професор кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, м. Харків

## INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Mykola V. Krasnoselsky**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the State Institution «Institute of Medical Radiology and Oncology named after S.P. Grigoriev of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

**Olena S. Pushkar**, Staff Physician of the Clinical Oncology Department, State Institution «Institute of Medical Radiology and Oncology named after S.P. Grigoriev of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

**Larysa I. Simonova**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Radiation Oncology of the State Institution «Institute of Medical Radiology and Oncology named after S.P. Grigoriev of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

**Mykhailo S. Myroshnychenko**, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Kharkiv