

УДК 616.5 – 004 – 08: 615.831] – 092.9

УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ КОЖИ У КРЫС КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ СКРИНИНГОВОЙ ОЦЕНКИ ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Цуров А.Б., Цурова М.Б., Абакумов А.В., Иригов А.А.

ГБОУ ВПО Кубанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, e-mail: artemtrofimenko@mail.ru

Апоптоз как вид запрограммированной клеточной смерти наряду с некрозом является одним из ключевых вариантов ответа клетки на повреждение. Апоптоз играет большую роль в патогенезе многих заболеваний. В связи со сказанным ранее актуальной является разработка простой методики *in vivo* для изучения и скрининговой оценки влияния терапевтических воздействий на выраженность некроза и апоптоза. Целью нашей работы являлась разработка скринингового метода оценки протекторных свойств терапевтических воздействий на модели ультрафиолетового повреждения кожи у крыс. Мы обнаружили, что облучение оголенной кожи крысы в течение 20 минут с использованием УФ-лампы мощностью 30 ватт, длиной волны 253,7 нм. приводит к развитию ультрафиолетового дерматита, при этом наряду с некротизированными обнаруживаются кератиноциты в состоянии апоптоза «солнечно-ожоговые клетки». Мы разработали модель ультрафиолетового облучения кожи, которая потенциально может применяться в качестве скринингового метода оценки протекторных свойств лечебных воздействий.

Ключевые слова: апоптоз, воспаление, эритема, кожа, крыса, модель, ультрафиолет

THE ULTRAVIOLET SKIN DAMAGE IN RATS AS A MODEL FOR SCREENING ASSESSMENT PROTECTIVE PROPERTIES DRUGS

Turov A.B., Turova M.B., Abakumov A.V., Irigov A.A.

Kuban state medical university of the Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, e-mail: artemtrofimenko@mail.ru

Apoptosis as a form of programmed cell death, along with necrosis is one of the key options of the cell response to injury. Apoptosis plays an important role in the pathogenesis of many diseases. In connection with our earlier date is to develop a simple technique to study *in vivo* screening and evaluation of the impact of therapeutic interventions on the severity of necrosis and apoptosis. The aim of our study was to develop a screening method for assessing protective properties of the therapeutic effects on the model of UV skin damage in rats. We found that irradiation of the exposed rat skin for 20 minutes with a UV lamp power of 30 W, a wavelength of 253.7 nm. leads to the development of ultraviolet dermatitis, wherein together with necrotic keratinocytes were detected in apoptotic «burn-solar cells.» We have developed a model of ultraviolet irradiation of the skin, which could potentially be used as a screening method for assessing protective properties of therapeutic interventions.

Keywords: apoptosis, inflammation, erythema, skin, rat, model, ultraviolet light

Апоптоз как вид запрограммированной клеточной смерти наряду с некрозом является одним из ключевых вариантов ответа клетки на повреждение. Апоптоз играет большую роль в патогенезе многих заболеваний. В связи со сказанным ранее актуальной является разработка простой методики *in vivo* для изучения и скрининговой оценки влияния терапевтических воздействий на выраженность некроза и апоптоза.

Цель работы – разработка скринингового метода оценки протекторных свойств терапевтических воздействий на модели ультрафиолетового повреждения кожи у крыс.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в лаборатории кафедры общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО КубГМУ. Эксперименты проведены на 6 белых нелинейных самцах крыс средней массой – 250 ± 35 гр. Содержание животных и постановка экспериментов проводилась в соответствии с требованиями при-

казов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 года, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Все оперативные вмешательства сопровождались использованием золотил-ксиллазинового наркоза по следующей схеме: золотил 0,3 мг в/м («Virbac» Франция), ксиланит 0,8 мг в/м (ЗАО «НИТА-ФАРМ, Россия, г. Саратов), атропина сульфат 0,1 % раствор – 0,01 мл п/к из расчета на 100 гр. массы тела животного. Наркоз верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители (укол лапы) и угнетению роговичного рефлекса.

Крысы были разделены на 2 группы: группа № 1 – из 2 животных, интактные крысы; группа № 2 – из 4 крыс, которым проведен сеанс ультрафиолетового облучения кожи.

Облучение кожи проводилось с использованием ультрафиолетового облучателя ОББ-92У с лампой мощностью 30 ватт, длиной волны 253,7 нм.

После введения наркоза на боку крысы в участке размером 4x4 см проводилось удаление шерсти. Далее на эту область проводилось наложение плотной ткани с вырезанным участком размером 3x3 см. Ультрафиолетовый облучатель располагался на высоте 20 см от уровня кожи. Проводился один сеанс облуче-

ния в течение 25 минут, после чего крысу оставляли в клетке на сутки.

На следующие сутки после облучения под наркозом проводился забор участка облученной кожи, с последующей его фиксацией в 10% растворе забуференного фосфатами нейтрального формалина, на 2-е суток. Для изготовления гистологических препаратов из кожи крыс была проведена модификация методики проводки в парафин с использованием изопропанола и минерального масла (изменялось время экспозиции в растворах, принципиальная схема не менялась). В дальнейшем изготавливались парафиновые блоки, проводилась их нарезка на микротоме МПС-2 (СССР) на срезы с толщиной 10 мкм. Проводилось монтирование срезов на покрытые адгезивным покрытием предметные стекла. Микропрепараты окрашивались гематоксилином-эозином, а также по методу Браше. Полученные микропрепараты фотографировали с помощью окулярной камеры «Levenhuk 230» (США) на микроскопе Микромед-6 (Россия).

Результаты исследования и их обсуждение

Случаев незапланированной гибели и осложнений у животных зарегистрировано не было. При исследовании микропрепаратов полученных от крыс из группы № 1 – интактные животные, выявлено нормальное строение кожи крысы. При исследовании микропрепаратов полученных от крыс из группы № 2 – подвергшихся облучению оголенной кожи крысы в течение 20 минут с использованием УФ-лампы мощностью 30 ватт, длиной волны 253,7 нм нами обнаружена микроскопическая картина УФ-индуцированного дерматита. При исследовании микропрепаратов окрашенных гематоксилином-эозином отмечается наличие признаков отека и стаза крови в сосудах дермы. Незначительно выраженная нейтрофильная инфильтрация дермы. Наличие участков отслойки рогового слоя эпителия от дермы. Признаки неоднородной окраски ядер кератиноцитов, появление «солнечно-ожоговых клеток» (кератиноцитов в состоянии апоптоза). При окраске микропрепаратов по методу Браше наряду с клетками имеющие в своем составе ДНК и РНК, обнаруживается большое число предположительно кератиноцитов окрашенных только метиловым зеленым, наличия окраски пиронином, который окрашивает РНК в них не выявлено, что косвенно свидетельствует о функциональной неактивности ядер, остановившихся процессах транскрипции и трансляции. Расположение неактивных клеток соответствует таковому расположению «солнечно-ожоговых клеток» на срезах.

Выводы

Облучение оголенной кожи крысы в течение 20 минут с использованием УФ-

лампы мощностью 30 ватт, длиной волны 253,7 нм приводит к развитию ультрафиолетового дерматита, при этом наряду с некротизированными обнаруживаются кератиноциты в состоянии апоптоза «солнечно-ожоговые клетки». Мы разработали модель ультрафиолетового облучения кожи, которая потенциально может применяться в качестве скринингового метода оценки протекторных свойств лечебных воздействий.

Список литературы

1. Левичкин В.Д. Характеристика цитокинового профиля и оксидативного статуса у крыс с экспериментальным ишемическим инсультом / В.Д. Левичкин, А.И. Трофименко, А.Х. Каде, И.И. Павлюченко, В.В. Мясникова, С.А. Занин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/120-16282> (дата обращения: 16.03.2015).
2. Трофименко А.И. Патогенетическое обоснование применения ТЭС-терапии при ишемическом инсульте (экспериментальное исследование): автореф. дис. ...канд. мед. наук. – Краснодар, 2014. – 24 с.
3. Трофименко А.И. Динамика уровня β-эндорфина при моделировании ишемического инсульта у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, Ф.А. Нехай [и соавт.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 3 (145). – С. 115–118.
4. Трофименко А.И. β-эндорфин и цитокиновый профиль в динамике экспериментального ишемического инсульта / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.В. Мясникова, Н.П. Пирогова, С.А. Занин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6; URL: <http://www.science-education.ru/120-16368> (дата обращения: 16.03.2015).
5. Трофименко А.И. Динамика цитокинового статуса у крыс при моделировании ишемического инсульта / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.Д. Левичкин, Ф.А. Нехай, С.А. Занин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/116-12557> (дата обращения: 21.03.2014).
6. Трофименко А.И. Влияние ТЭС-терапии на показатели системы про-/антиоксиданты у крыс с экспериментальным ишемическим инсультом / А.И. Трофименко, В.Д. Левичкин, Е.И. Ременякина, И.И. Павлюченко, А.Х. Каде, С.А. Занин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/116-12557> (дата обращения: 28.07.2014).
7. Трофименко А.И. Особенности электрокардиограммы у крыс с моделью церебральной ишемии, вызванной посредством коагуляции правой средней мозговой артерии // А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и соавт.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 2 (131). – С. 175–179.
8. Трофименко А.И. Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, В.П. Лебедев [и соавт.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2. – Ч. 1. – С. 215–218.
9. Трофименко А.И. Оценка уровня β-эндорфина при экспериментальном ишемическом инсульте у крыс / А.И. Трофименко, А.Х. Каде, С.А. Занин, Ю.В. Дынько // Вестник МУЗ ГБ № 2. – 2014. – № 2 (32); URL: <http://vestnik.kmltdo.ru/pdf/14/02/04.pdf> (дата обращения: 18.04.2014).
10. Турова А.Ю. Влияние ТЭС-терапии на процесс посттравматической регенерации тканей кожи крыс / А.Ю. Турова, А.Х. Каде, А.В. Уваров, С.А. Занин, Е.А. Уварова // Международный журнал экспериментального образования. – 2014. – № 5. – Ч. 1. – С. 150–151.