

Некроз и апоптоз кератиноцитов кожи крыс при сочетанном воздействии аллоксанового сахарного диабета и лазерного излучения

Галушина Ксения Сергеевна

Студент (специалист)

Ульяновский государственный университет, Институт медицины, экологии и физической культуры, Ульяновск, Россия

E-mail: galushinaksenia@gmail.com

Актуальность. В настоящее время актуальна проблема повреждения целостности кератиноцитов кожи при сахарном диабете, и как следствие, нарушение гомеостаза, а в дальнейшем, изменения нервной, гуморальной, иммунной систем в ответ на травму любой природы. Изучение данных реакций важно для оценки степени воздействия на организм, повреждающих факторов и разработки современным методов коррекции.

Цель исследования. Изучить жизнеспособность и гибель кератиноцитов кожи крыс при сочетанном воздействии аллоксанового сахарного диабета и лазерного излучения.

Материалы и методы. В экспериментальном исследовании использовали 40 лабораторных белых крыс массой тела 200-400 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Модель механического повреждения - глубокий поперечный разрез кожи и мышц средней части латеральной поверхности бедра, наносимый острым скальпелем. Моделирование аллоксанового сахарного диабета осуществлялось путем однократного внутри брюшинного введения аллоксана («Sigma» США) из расчета 100 мг/кг массы животного. В эксперименте использовали фемтосекундный эрбиевый лазер, излучающий в ближнем инфракрасном диапазоне и работающий в импульсном режиме со средней мощностью 1,25 Вт. Прибор предоставлен центром nano технологий НИТИ УлГУ. Заживление резаной раны происходило при стимулировании фемтосекундным эрбиевым лазером. Процедуру облучения проводили ежедневно на протяжении 28 дней в 8 утра на расстоянии 2 см от раны. Животные были разделены на 6 экспериментальных групп: интактную группу составляли крысы, которые не подвергались экспериментальным воздействиям; контрольной группой являлись крысы, которым наносили резанную рану; 1 опытная группа состояла из крыс у которых рана кожи заживала под воздействием фемтосекундного лазера; 2 опытная группа включала крыс с индуцированным аллоксановым сахарным диабетом; 3 опытная группа животных состояла из крыс у которых раны заживали на фоне аллоксанового сахарного диабета; 4 опытную группу составляли крысы у которых раны заживали при сочетанном воздействии аллоксанового сахарного диабета и фемтосекундного лазера. Выведение животных из эксперимента для проведения исследований производили на исходе 3-х, 7-х, 14-х, 21-х, 28-х суток. Манипуляции с крысами проводились в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных от 1989г.». Гистологические срезы кожи крыс окрашивали гематоксилин-эозином. Жизнеспособность и гибель кератиноцитов кожи крыс анализировали с использованием программы Motic. Статистическую обработку экспериментальных данных производили с помощью Excel 2007, SPSS, Statistica 6. Достоверность различий оценивали на основе U-критерия Манна - Уитни, за достоверность принимали различия на уровне значимости 95% ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Жизнеспособность и гибель кератиноцитов кожи крыс интактной группы и группы крыс с сахарным диабетом не изменялись на протяжении всего эксперимента (на стадии апоптоза составляет $2,55 \pm 0,25$, на стадии некроза $0,7 \pm 0,08$, нормальные клетки $16,84 \pm 0,61$). Количество кератиноцитов кожи на стадии

апоптоза у контрольной группы, раны которой заживлялись естественным путем на 3-14 сутки составляет $5,57 \pm 0,14$, на 21 сутки количество клеток снижается на 50% и постепенно возрастает к 28 суткам. На стадии некроза количество клеток на 3 сутки составило $2,69 \pm 0,17$, к 7 суткам идет резкое увеличение на 64%, с 7-28 сутки количество кератиноцитов кожи снижается $0,81 \pm 0,11$. Количество нормальных клеток растет с 21 суток. %. У животных с раной, облученной лазером, количество клеток на 3 сутки на стадии апоптоза увеличивается на 10%, а количество нормальных клеток и на стадии некроза уменьшается на 5% и 46%. На 28 сутки количество кератиноцитов кожи в стадии апоптоза и некроза уменьшилось 32% и 13%, количество нормальных клеток увеличилось на 7%. У животных с аллоксановым сахарным диабетом на 3 сутки наблюдалось снижение количества кератиноцитов кожи на стадии апоптоза на 57%, некроза на 50% и нормальных клеток на 12%. К 28 суткам количество клеток на стадии апоптоза и некроза уменьшилось на 30% и 28%. А количество нормальных клеток увеличилось на 16%. У животных с сахарным диабетом и раной по сравнению с контрольной группой на 3 сутки наблюдается уменьшение количества клеток на стадии апоптоза, некроза и нормальных клеток на 42%, 79% и 25% соответственно. К 28 суткам количество кератиноцитов кожи на стадии апоптоза и некроза увеличилось на 41% и 22%, количество нормальных клеток снизилось на 39%. У животных с сахарным диабетом и раной, под воздействием фемтосекундного лазера, на 3 сутки количество клеток на стадии апоптоза составило $0,933 \pm 0,14$, на стадии некроза было $0,75 \pm 0,13$, нормальных клеток было $26,87 \pm 1,34$. На 21 сутки произошло увеличение количества клеток на стадии апоптоза и нормальных клеток на 62% и 11%, количество клеток на стадии некроза уменьшилось на 71%.

Выводы. В результате проведенного исследования было установлено, что при аллоксановом диабете у крыс наблюдается колебание соотношения нормальных и гибнущих кератиноцитов кожи по сравнению с интактной группой. В течение всего эксперимента количество жизнеспособных клеток превышает количество гибнущих. В контрольной группе с 3 по 21 день наблюдается снижение количества жизнеспособных клеток, а при воздействии лазером — увеличение. К 28 дню количество жизнеспособных клеток в обеих группах становится одинаковым. При заживлении резаных ран кожи крыс с аллоксановым диабетом и воздействием фемтосекундным лазером к 28 дню количество жизнеспособных клеток преобладает в группе животных без лазерного облучения.

Источники и литература

- 1) 1. Михайлова И.А., Папаян Г.В., и др. Основные принципы применения лазерных систем в медицине. Под ред. акад. Н.Н. Петрищева. СПб, 2007, 44 с
- 2) 2. Нечай В.В., Харибова Е.А. МЕТОДИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОЖИ // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 2.