

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

Галушкина 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 1,25мВт. Прибор предоставлен центромnano 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 изменились на протяжении всего эксперимента (на стадии апоптоза составляет $2,55\pm0,25$, на стадии некроза $0,7\pm0,08$, нормальные клетки $16,84\pm0,61$). Количество кератиноцитов кожи на стадии

апаптоза 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 апаптоза 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 апаптоза 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 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., Харикова Е.А. МЕТОДИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОЖИ // Современные проблемы науки и образования. – 2006. – № 2.