

Ultraviolet (UV) radiation is not only a common natural pathogenic factor that is a significant factor in the etiology of various skin diseases, but it can also be used in treating skin diseases. Thus, for the treatment of such common dermatoses as vitiligo, psoriasis, atopic dermatitis, monochromatic UV radiation with the maximum power of the light flux with a wavelength of 311 nm - narrow-band UV radiation (UV-B) is used.

The study aimed to investigate the morphological and functional changes occurring in the epidermis of rats exposed to UV radiation. It also evaluated the dynamics of recovery, its speed and features, pathological changes of the epidermis, and its thickness, as a sign of the persistence of pathological processes.

The experiment was based on the simulation of the therapy of skin diseases with narrow-band UV radiation. The study's biological material was collected from 30 animals, 6 individuals per group: intact group (control group), on the 31st (one day after the last session of UV irradiation), 45th, 61st and 121st days experiment. The morphological picture was compared with the native structure of the skin of rats in the control group.

Peak morphofunctional changes were present on the 31st day of the experiment - after the end of UV irradiation. In this period, together with the pathological picture, statistical differences in the thickness of the epidermis from the control group were most clearly manifested ($p=0.002$). At the next stages of the experiment, the pathological changes of the epidermis spread in the direction from the Malpighian layer to the entire height of the epidermis (dystrophy of the cells of the basal layer, intensification of the spinous layer, disruption of the organization of the granules of the granular layer, etc.) and further to the focus of morphological abnormalities mainly in the upper layers of the epidermis (phenomena of hyperkeratosis).

The morphometry of the average thickness of the epidermis showed a statistically significant deviation from the norm in the direction of increase during the entire experiment period (121 days). Pathological signs were also preserved. At the same time, epidermal thickness indicators tended to normalize over time. The predicted normalization of the indicator of the average thickness of the epidermis was supposed to occur on the 231st day (according to linear regression).

The epidermis shows a number of pathological signs after a course of UV radiation. The average thickness of the epidermis is an indicator among others that can be objectively measured and shows a statistically significant increase compared to the normal indicator by day 121 ($p=0.009$). According to the calculated forecast, it can normalize only on the 231st day of potential observation. Thus, the average thickness measurement of the epidermis can be used to evaluate morphofunctional changes in the epidermis.

Key words: ultraviolet radiation, epidermis, skin, keratinocytes, restoration, regeneration, readaptation, experiment, pathological changes.

Connection of the publication with planned research works.

The work was carried out within the framework of the National Development Program "Development of a method for intraoperative diagnosis of malignant tumors using fluorophore-conjugated antibodies to molecules of cancer-embryonic antigen", state registration number 0121U100472, National Development Program "Development of a method for diagnosing and predicting the course of tumors using molecules of cell adhesion of cancer-embryonic antigen" and cyclooxygenases", state registration number 0123U100111 and the planned scientific topic of the Department of Pathological Anatomy of Sumy State University "Modern views on the morphogenesis of general pathological processes", state registration number 0119U100887.

Introduction.

Ultraviolet (UV) radiation is used to treat a number of dermatological diseases, such as psoriasis, atopic dermatitis, vitiligo, and others [1]. Among UV light waves, the wavelength of 311 nm, or the so-called narrow-band UV-B radiation (UVB), has the most significant biological effect and, in particular, the greatest impact on the pigmentary component of the skin [1, 2]. UV light of

this wavelength has the greatest effect on melanogenesis, the formation of erythema (redness) of the skin, and, at the same time, can have a damaging impact on another chromophore of the skin – the DNA of keratinocytes. Most of the UV radiation is absorbed by the DNA of keratinocytes above the basal and spinous layers [3]. Under the influence of UV radiation, paracrine factors are formed in keratinocytes, which serve as regulatory signals for melanogenesis, modification of the immune response, dermal reaction, etc. [4, 5]. That is why TL-01 medical emitters have a radiation spectrum with a power peak of 311 ± 2 nm [6]. Along with the indicated pathological changes, UV causes a therapeutic effect – it leads to a decrease in the intensity of inflammation, the area of the rash in patients with psoriasis, it is used to provoke the restoration of pigment in patients with vitiligo [7, 8]. At the same time, UV radiation also leads to adverse clinical effects – the ionizing nature of the light wave causes photoaging, DNA damage of skin cells, and unwanted hyperpigmentation [9, 10]. Under the influence of ultraviolet, there is a powerful production of melanosomes, as well as other metabolic and synthetic processes, which naturally cause UV radiation to cause

the clinical condition of melanin hyperpigmentation of the skin [10-12].

The aim of the study.

To evaluate the morphological changes in the skin of rats, in particular the epidermis, after a course of UV radiation; the dynamics, features and speed of skin recovery in different time intervals with the assessment of pathological phenomena in the epidermis and the numerical measurement of the thickness of the epidermis as a marker of the presence of a pathological process in it.

Object and research methods.

During the experiment, monochromatic UV irradiation with a peak intensity of light at a wavelength of 311 nm was used. The source of UV radiation was the medical device "Sapphire" with a PL-S 9W/01/2P Philips lamp (Poland). The scapular area of the rats was freed from fur using an electric trimmer and an additional shaving nozzle, which made it possible to completely free the surface of the experimental area of the animal's skin from protection by fur. The erythema dose was determined step by step. After that, the irradiation's working duration was 25% shorter (15-30 seconds, respectively) than the erythema (suberythemal dose of UV irradiation). The rat's skin was irradiated every other day. The total duration of UV irradiation was 15 procedures within 30 days. Such tactics correspond to the clinical experience of using local UVB therapy.

Collection of biological material for the study was performed from 30 animals, 6 individuals per group: intact group (control group), on the 31st (one day after the last session of UV irradiation), 45th, 61st and 121st days experiment. The experimental model and all treatment of animals was approved by the commission on compliance with bioethics in conducting experimental and clinical studies of the Educational and Scientific Medical Institute of Sumy State University (protocol No. 11/5 dated 05/06/2021). All animal handling and experimental procedures were performed following interna-

tional, national, and institutional ethical guidelines for the care and use of animals. Punch biopsies of the skin of irradiated areas with a diameter of 5 mm were used for morphological research, n=30. Skin samples were fixed in a buffered formalin solution (10%) for 24 hours and embedded in paraffin blocks.

Routine staining with hematoxylin-eosin was used to morphologically assess skin condition. The samples were examined using a microscope "Carl Zeiss Primo Star" (Germany) equipped with a digital camera "Zeiss AxioCam ERc 5s" (Germany) and image capture software "ZEN 2 (blue edition)" (Germany).

Digital image processing was carried out using the ImageJ program, a freely distributed software of the US National Institutes of Health. Using the software, the average thickness of the epidermis was measured on each preparation, which was calculated as the ratio of the software-measured total area of the epidermis to the length of the basement membrane. In addition, other non-numerical changes in skin layers were described.

Statistical processing of the obtained results was done using the Mann-Whitney U-test calculation in the Google Sheets environment. $p \leq 0.05$ was considered a statistically significant difference between the compared data. The linear regression method in the Google Sheets environment was used for predictive values.

Digital image processing was carried out using the ImageJ program, a freely distributed software of the US National Institutes of Health. Using the software, the average thickness of the epidermis was measured on each preparation, which was calculated as the ratio of the software-measured total area of the epidermis to the length of the basement membrane. In addition, other non-numerical changes in skin layers were described.

Statistical processing of the obtained results was done using the Mann-Whitney U-test calculation in the Google Sheets environment. $p \leq 0.05$ was considered a statistically significant difference between the compared data. The linear regression method in the Google

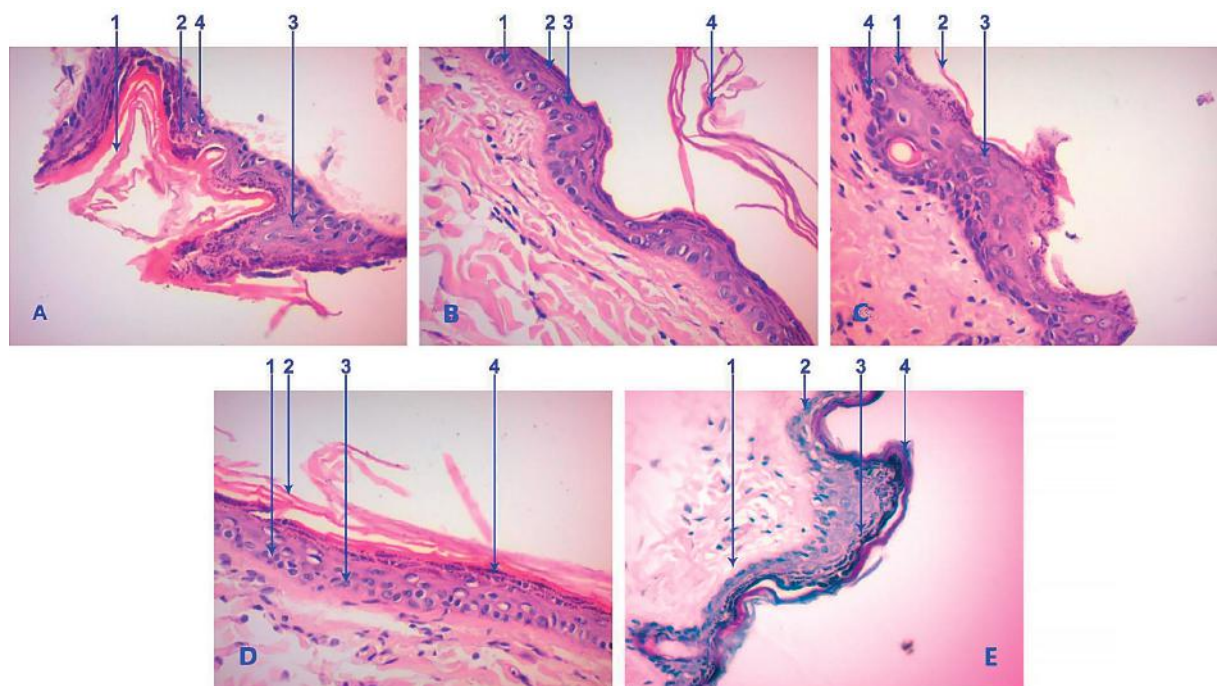


Figure 1 – Cross-section of rat skin after a course of UV irradiation on the 31st (A), 45th (B), 61st (C), 121st (D) day of the experiment and the control group (E). Hematoxylin-eosin staining. Magnification: $\times 400$.

Sheets environment was used for predictive values.

Research results and their discussion.

Before evaluating the existing changes in the skin of the experimental animals, appropriate measurements were made of the skin of the intact group. The average thickness of the epidermis was $32.63 \pm 5.39 \mu\text{m}$, the minimum thickness was $19.2 \pm 5.86 \mu\text{m}$, and the maximum thickness was $58.73 \pm 10.64 \mu\text{m}$.

Pathological changes in the dermis and epidermis of various degrees and combinations were determined during histological examination of the obtained rat skin preparations. Thus, the most pronounced changes were visible in the drugs selected on the 31st day of the experiment. Various violations of the keratinization process were observed – enlarged keratinocytes appeared, the structure and proportion of the epidermis layers changed. Lymphoid-like cells were observed in the epidermis. Such signs indicate the persistence of the inflammatory process in the epidermis (fig. 1A).

After two weeks (45th day), pathological phenomena retained their brightness. The “wave” of pathological changes spreads from the basal layer of the epidermis to its surface. Acceleration of cell division of the basal layer the day before leads to the appearance of a well-defined spinous layer – the next step in the evolution of keratinocytes. Basal keratinocytes, however, still showed hyperchromia and nuclear deformation with a tendency toward a cylindrical shape (fig. 1B).

On the 61st day of the experiment, basal keratinocytes with hyperchromic nuclei were less frequent. Disorganization of the granule layer was observed. The spinous layer expressiveness decreased, demonstrating the spread of pathological changes in keratinocytes from this layer to the next stage of keratinization – the granular layer, which preserves the disorganization of granules and their increased number. In the corneal layer there is lamellar peeling. (fig. 1C).

The preparations from the 121st day of the experiment determine the return of the basal layer to the shape and coloration inherent in the control group. Also, the severity of the spinous layer decreased, and the density and patterns of granule arrangement in the granular layer of the epidermis were restored. There is a thickening of the corneal layer and exfoliation of its particles with scales of different sizes, which is the final phase of the spread of pathological changes from the basal layer of the epidermis to its surface (fig. 1D).

The numerical calculation of the average thickness of the epidermis showed the following values: for the 31st day of the experiment, the average thickness was $54.89 \pm 10.58 \mu\text{m}$, for the 45th day – $40.80 \pm 4.80 \mu\text{m}$, for the 61st day – $49.93 \pm 11.16 \mu\text{m}$, and for the 121st day – $45.18 \pm 9.44 \mu\text{m}$.

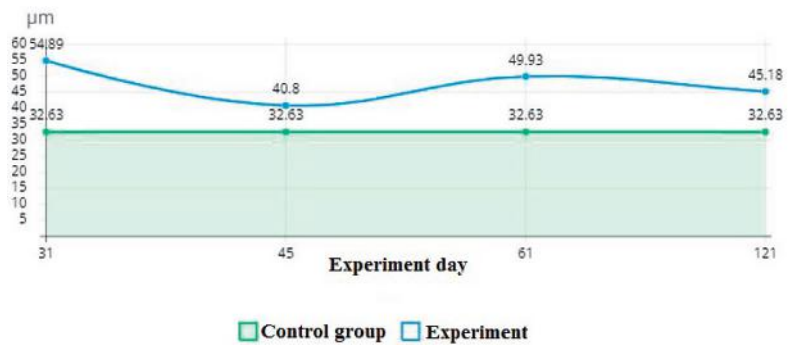


Figure 2 – Dynamics of epidermal thickness recovery in the experimental groups.

Table – P-value when calculating the Mann-Whitney U-test for the average thickness of the epidermis in the experimental groups in relation to the control

	31/N	45/N	61/N	121/N
p=	0,002	0,015	0,002	0,009

As the graph (fig. 2) shows, the average thickness of the epidermis of the experimental rats did not return to normal during the entire observation period.

The p-value when calculating the Mann-Whitney U-test (table) shows statistically significant preservation of differences between the experimental and control groups, even on day 121 of the experiment.

At the same time, the control group has more grouped, homogeneous measurement values, as seen in the graph (fig. 3), while the experimental groups have more significant measurement variability.

The linear regression method calculation between the data “day of experiment” and “epidermal thickness” showed that the epidermal thickness would return to normal levels on the 231st day of the experiment.

The available results demonstrate the preservation of changes in the epidermis of rats after a 30-day simulation of the course of phototherapy of dermatoses. There is a tendency for the structure of the rat epidermis to approach normal on day 121, as well as a decrease in the average thickness of the epidermis. At the same time, trace pathological signs persist and the thickness of the epidermis does not reach the control group. This indicates a rather long (at least 3 times, and

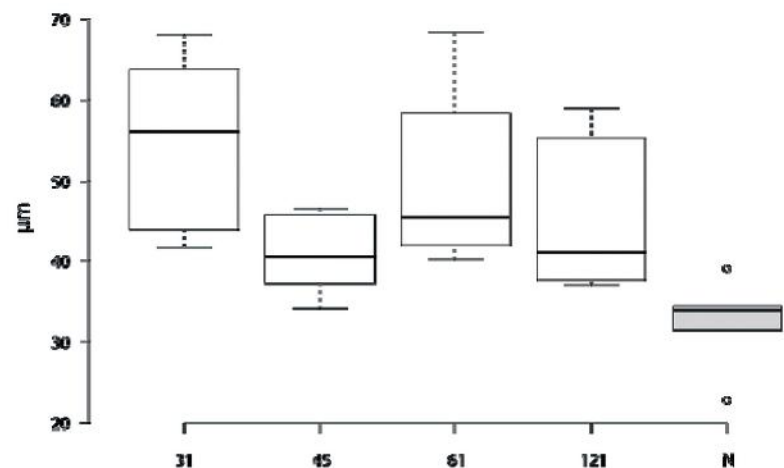


Figure 3 – Distribution of measurements of the average epidermis thickness in the experimental groups, respectively, on the day of the experiment (31, 45, 61, 121; white) and the control group (N, grey).

according to the forecast, 7 times longer) persistence of skin changes after a course of UV irradiation.

During the experiment, we noted the “day 45 phenomenon”, where it thickened again after a significant decrease in epidermal thickness on day 61. We attribute this phenomenon to the desquamation of the corneal layer, whose cells have been exposed to cumulative UV exposure throughout the treatment. Clinically, this phenomenon corresponds to lamellar exfoliation of the epidermis on days 10-14 after irradiation. Later, from day 61, this process is smoother because keratinocytes that exfoliated on this day during the keratinization stages received only the final UV irradiation procedures or were not directly exposed to the factor, which emphasises the importance of paracrine and autocrine regulation of keratinocytes.

Conclusions.

The consequences of the pathological effects of UV irradiation in the epidermis of the rat skin are observed during 120 days of the experiment. Each stage of skin recovery is accompanied by a decrease in the total number of pathological signs but not their complete disappearance. The computer-measured average thickness of the epidermis of experimental animals shows a tendency to recovery but remains significantly ($p=0.009$) increased even on the 121st day of the experiment.

Prospects for further research.

To investigate the effect on the skin that has received a course of UV irradiation of cofactors – chemical and laser factors used in clinical practice to correct unwanted hyperpigmentation.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-435-443

УДК 616.5-092.9:615.84

Сулим Г. А., Ліндін М. С., Сікора К. О., Романюк А. М.

ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕННЯ ШКІРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ

Сумський державний університет, Навчально-науковий медичний інститут (м. Суми, Україна)

k.sikora@med.sumdu.edu.ua

Ультрафіолетове (УФ) випромінювання є не лише поширеним природним патогенним фактором, що виступає значним чинником в етіології різних шкірних захворювань, але й може бути застосований в терапії шкірних захворювань. Таким чином для лікування таких поширених дерматозів, як вітиліго, псоріаз, atopічний дерматит використовується монохроматичне УФ випромінювання із максимальною силою світлового потоку із довжиною хвилі 311 нм - вузько-смугове УФ випромінювання (УФ-В).

Метою дослідження було дослідити морфологічні зміни, що виникали в епідермісі щурів, на шкіру яких було застосовано курс УФ опромінення. Також оцінювалася динаміка відновлення, його швидкість та особливості, патологічні зміни епідермісу та його товщина, як ознака персистенції патологічних процесів.

Експеримент базувався на імітації терапії шкірних захворювань вузько-смуговим УФ випромінюванням. Збір біологічного матеріалу для дослідження виконували від 30 тварин, по 6 особин на групу: інтактна група (група контролю), на 31-й (через день після останнього сеансу УФ-опромінення), 45-й, 61-й та 121-й день експерименту. Морфологічну картину порівнювали із нативною будовою шкіри щурів контрольної групи.

Пікові морфологічні зміни були наявні на 31-й день експерименту - після завершення УФ опромінення. В цей період, разом із патологічною картиною, найбільш яскраво проявлялися і статистичні відмінності товщини епідермісу від групи контролю ($p=0,002$). На наступних етапах експерименту патологічні зміни епідермісу поширювалися в напрямку від мальпігійового шару на всю висоту епідермісу (дистрофія клітин базального шару, інтенсифікація шипуватого шару, порушення організації гранул зернистого шару, тощо) і далі до фокусу морфологічних відхилень переважно у верхніх шарах епідермісу (явища гіперкератозу).

Морфометрія середньої товщини епідермісу показала протягом всього періоду експерименту (121 день) статистично достовірне відхилення від показників норми в бік збільшення. Зберігалися і патологічні ознаки. Водночас, показники товщини епідермісу демонстрували тенденцію до нормалізації із часом. Прогнозована нормалізація показника середньої товщини епідермісу мала відбутися на 231-день (за лінійною регресією).

Епідерміс після курсу УФ опромінення демонструє ряд патологічних ознак. Середня товщина епідермісу - показник серед інших, що піддається об'єктивному виміру та демонструє до 121 дня ($p=0,009$) статистично достовірне збільшення відносно показника норми і за вирахуванням прогнозом може нормалізуватися лише на 231-й день потенційного спостереження. Таким чином вимір середньої товщини епідермісу може використовуватись, як один з маркерів оцінки морфологічних змін в епідермісі.

Ключові слова: ультрафіолетове випромінювання, епідерміс, шкіра, кератиноцити, відновлення, регенерація, реадaptaція, експеримент, патологічні зміни.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота виконана у рамках НДР «Розробка методу інтраопераційної діагностики злоякісних пухлин за допомогою флюорофор-кон'югованих антитіл до молекул раково-ембріонального антигену», № держреєстрації 0121U100472, НДР «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигеназ», № держреєстрації 0123U100111 та планової наукової теми кафедри патологічної анатомії СумДУ «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів», № держреєстрації 0119U100887.

Вступ.

Ультрафіолетове (УФ) випромінювання використовується для терапії цілого ряду дерматологічних захворювань, таких як псоріаз, atopічний дерматит, вітиліго та інших [1]. Серед світлових хвиль УФ найбільший біологічний ефект та, зокрема, найбільший вплив на пігментну складову шкіри має довжина хвилі 311 нм, або так зване вузькосмугове УФ-В випромінювання (UVB) [1, 2]. УФ світло такої довжини хвилі має найбільший вплив на меланогенез, формування еритеми (почервоніння) шкіри та водночас може проявляти ушкоджуючий вплив на інший хромофор шкіри – ДНК кератиноцитів. Більшість УФ випромінювання поглинається ДНК кератиноцитів над базальним та шипуватими шарами [3]. Під впливом УФ випромінювання в кератиноцитах утворюються паракринні фактори, що слугують регуляторними сигналами для меланогенезу, модифікації імунної відповіді, дермальної реакції, тощо [4, 5]. Саме тому медичні випромінювачі TL-01 мають спектр випромінювання із піком потужності 311 ± 2 нм [6]. Разом із вказаними патологічними змінами, УФ спричинює терапевтичний ефект – призводить до зниження інтенсивності запалення, площі висипу у пацієнтів із псоріазом, використовується для провокації відновлення пігменту у пацієнтів із вітиліго [7, 8]. В той же час УФ випромінювання призводить і до побічних клінічних ефектів – іонізуючий характер світлової хвилі викликає фотостаріння, ушкодження ДНК клітин шкіри та небажану гіперпігментацію [9, 10]. Під впливом ультрафіолету відбувається потужне вироблення меланосом, а також інші метаболічні та синтетичні процеси, що природним чином робить УФ випромінювання причиною клінічного стану – меланінової гіперпігментації шкіри [10-12].

Мета дослідження.

Оцінити морфологічні зміни шкіри щурів, зокрема епідермісу, після курсу УФ опроміненнь; динаміку, особливості та швидкість відновлення шкіри в різних часових проміжках із оцінкою патологічних явищ в епідермісі та числовим виміром товщини епідермісу, як маркера наявності патологічного процесу в ньому.

Об'єкт і методи дослідження.

У ході експерименту використовувалося монохроматичне УФ опромінення із піковою інтенсивністю світла при довжині хвилі 311 нм. Джерелом УФ випромінювання слугував медичний прилад «Сапфір», із лампою PL-S 9W/01/2P Philips (Польща). Лопаткова ділянка щурів звільнялася від хутра за допомогою електричного тримера та додатковою насадкою для гоління, що давало змогу повністю звільнити поверх-

ню експериментальної ділянки шкіри тварин від хутру хутром. Поетапно визначалася еритемна доза. Після цього як робоча використовувалася тривалість опромінення на 25% коротша (відповідно на 15-30 секунд), ніж еритемна (суберитемна доза УФ опромінення). Опромінення шкіри щура проводили через день. Загальна тривалість УФ опромінення склала 15 процедур протягом 30 днів. Подібна тактика відповідає клінічному досвіду використання локальної UVB терапії.

Збір біологічного матеріалу для дослідження виконували від 30 тварин, по 6 особин на групу: інтактна група (група контролю), на 31-й (через день після останнього сеансу УФ-опромінення), 45-й, 61-й та 121-й день експерименту. Експериментальна модель та всі поводження з тваринами було схвалено комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету (протокол №11/5 від 06.05.2021 р.). Усі поводження з тваринами та експериментальні процедури проведено відповідно до міжнародних, національних та інституційних етичних вказівок щодо догляду та використання тварин. Для морфологічного дослідження використовували панч-біоптати шкіри опромінених ділянок діаметром 5 мм, $n=30$. Зразки шкіри фіксували в розчині забуфреного формаліну (10%) протягом 24 годин і заливали в парафінові блоки.

Для морфологічної оцінки стану шкіри використовувалося рутинне забарвлення гематоксилін-еозин. Зразки досліджували за допомогою мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» (Німеччина) в комплекті з цифровою камерою «Zeiss AxioCam ERc 5s» (Німеччина) та програмним забезпеченням для захоплення зображень «ZEN 2 (blue edition)» (Німеччина).

Цифрову обробку зображень проводили за допомогою програми ImageJ – вільно поширюваного програмного забезпечення Національного інституту здоров'я США. За допомогою програмного забезпечення на кожному окремому препараті вимірювалася середня товщина епідермісу, що розраховувалася, як відношення програмно вимірюваної загальної площі епідермісу до протяжності базальної мембрани. Окрім того описувалися інші нечислові зміни шарів шкіри.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою розрахунку U-критерію Манна-Уїтні в середовищі Google Sheets. Статистично значущою відмінністю між порівнюваними даними вважали $p \leq 0,05$. Для прогнозних значень використовувався метод лінійної регресії в середовищі Google Sheets.

Результати дослідження та їх обговорення.

Перед оцінкою наявних змін у шкірі експериментальних тварин було проведено відповідні виміри шкіри інтактної групи. Товщина епідермісу в нормі складала в середньому $32,63 \pm 5,39$ мкм, мінімуми товщини склали $19,2 \pm 5,86$ мкм та максимуми товщини – $58,73 \pm 10,64$ мкм.

При гістологічному дослідженні отриманих препаратів шкіри щурів визначалися патологічні зміни дерми та епідермісу різного ступеня та поєднання. Так, найбільш виражені зміни були помітні у препаратах, відібраних на 31-й день експерименту. Спо-

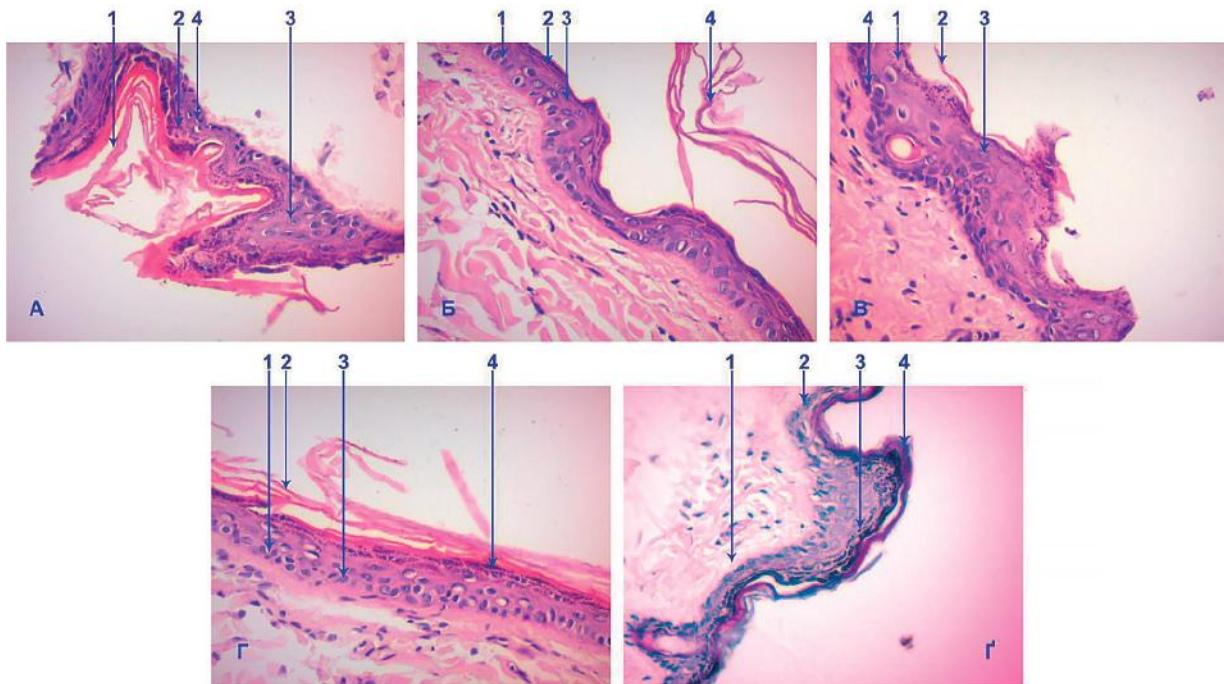


Рисунок 1 – Поперечний зріз шкіри щурів після курсу УФ опромінення на 31-ий (А), 45-ий (Б), 61-ий (В), 121-ий (Г) день експерименту та групи контролю (Г'). Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення: $\times 400$.

стерігалися різні порушення процесу кератинізації – з'являлися збільшені кератиноцити, змінювалася структура та пропорція шарів епідермісу. В епідермісі спостерігалися клітини, що нагадували лімфоїдні. Такі ознаки свідчать про персистенцію запального процесу в епідермісі (рис. 1А).

Через 2 тижні (45-та доба) патологічні явища ще зберігали свою яскравість. «Хвиля» патологічних змін поширюється від базального шару епідермісу до його поверхні. Прискорення поділу клітин базального шару напередодні призводить до появи чітко вираженого шипуватого шару – наступного кроку еволюції кератиноцитів. Базальні кератиноцити, тим не менш, ще демонстрували гіперхромію та деформацію ядер з тенденцією до циліндричної форми (рис. 1Б).

На 61-ий день експерименту базальні кератиноцити із гіперхромією ядер зустрічалися рідше. Спостерігалася дезорганізація зернистого шару. Зменшувалася виразність остистого шару, що демонструє поширення патологічних змін кератиноцитів від цього шару до наступного за етапами кератинізації – зернистого, який зберігає дезорганізацію гранул та збільшену їх кількість. У роговому шарі наявне пластинчасте лущення. (рис. 1В).

Препарати з 121-го дня експерименту визначають повернення базального шару до форми та забарвлення, притаманним групі контролю. Також зменшувалася виразність остистого шару, відновлювалася щільність та патерни розташування гранул в зернистому шарі епідермісу. Наявне потовщення рогового шару, злущування його частинок лусочками різного розміру, що є завершальною фазою поширення патологічних змін від базального шару епідермісу до його поверхні. (рис. 1Г).

Числовий обрахунок середньої товщини епідермісу показав наступні значення: для 31-го дня експерименту середня товщина складала $54,89 \pm 10,58$ мкм, для 45-го дня – $40,80 \pm 4,80$ мкм, для 61-го дня – $49,93 \pm 11,16$ мкм, та для 121-го дня – $45,18 \pm 9,44$ мкм.

Як видно з графіку (рис. 2), значення середньої товщини епідермісу експериментальних щурів не поверталися до норми протягом всього періоду спостереження.

Значення p при підрахунку U -критерію Манна-Уїтні (табл.) показує статистично-достовірне збереження відмінностей між експериментальними групами та групою контролю навіть на 121-ий день експерименту.



Рисунок 2 – Динаміка відновлення товщини епідермісу в експериментальних групах.

Таблиця – Значення p при підрахунку U -критерію Манна-Уїтні для середніх товщин епідермісу в експериментальних групах по відношенню до контролю

	31/N	45/N	61/N	121/N
$p=$	0,002	0,015	0,002	0,009

У цей же час група контролю має більш згруповані, однорідні значення вимірів, що видно на графіку (рис. 3), тоді як експериментальні групи мають більшу варіативність вимірів.

Розрахунок за методом лінійної регресії між даними «день експерименту» та «товщина епідермісу» показав, що товщина епідермісу повернеться до нормального рівня на 231-ий день експерименту.

Наявні результати демонструють збереження змін в епідермісі щурів після 30-ти денної імітації курсу фототерапії дерматозів. Наявна тенденція наближення структури епідермісу щурів до нормальної на 121-ий день, а також зменшення середньої товщини епідермісу. Але разом з тим зберігаються слідові патологічні ознаки та чисельно товщина епідермісу не досягає групи контролю. Це свідчить про досить тривале (мінімум в 3 рази, а за прогнозом в 7 разів триваліше) збереження змін шкіри після курсу УФ опромінення.

У ході експерименту можна відзначити «феномен 45-го дня» – ситуація, коли після значного зниження товщини епідермісу він знову потовстішав на 61-ий день. Ми пов'язуємо це явище із десквамацією рогового шару, клітини якого отримали накопичений вплив УФ протягом всього курсу. Клінічно таке явище відповідає пластинчастому злущуванню епідермісу на 10-14 день після опромінення. Надалі з 61-го дня цей процес носить більш плавний характер, адже кератиноцити, що злущувались в цей день за етапами кератинізації отримували лише кінцеві процедури УФ-опромінення, або і не зазнали прямого впливу

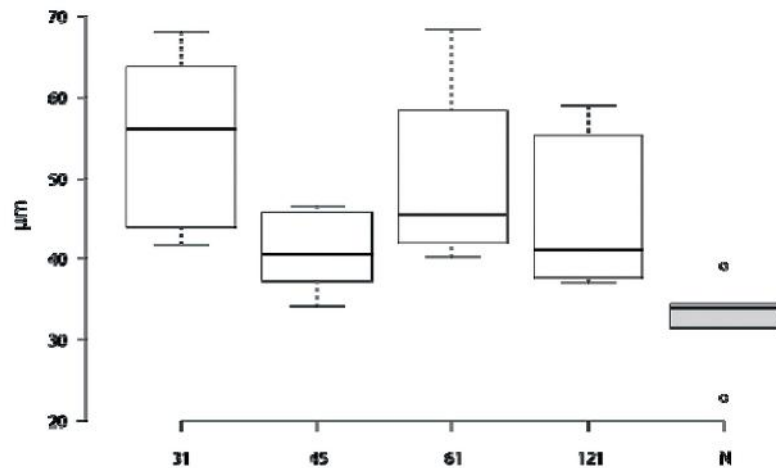


Рисунок 3 – Розподіл вимірів середньої товщини епідермісу в експериментальних групах, відповідно дня експерименту (31, 45, 61, 121; білий колір) та групи контролю (N, сірий колір).

чиннику, що підкреслює важливість паракринної та аутокринної регуляції кератиноцитів.

Висновки.

Наслідки патологічного впливу УФ-опромінення в епідермісі шкіри щурів спостерігаються протягом 120 днів експерименту. Кожний етап відновлення шкіри супроводжується зменшенням загальної кількості патологічних ознак, але не повним їх зникненням. Комп'ютерно виміряна середня товщина епідермісу експериментальних тварин демонструє тенденцію до відновлення, але залишається достовірно ($p=0,009$) збільшеною навіть на 121-ий день експерименту.

Перспективи подальших досліджень.

Дослідити вплив на шкіру, що отримала курс УФ опромінення, кофакторів – хімічних та лазерних чинників, що застосовуються в клінічній практиці для корекції небажаної гіперпігментації.

References / Література

- Dell'Anna ML, Mastrofrancesco A, Sala R, Venturini M, Ottaviani M, Vidolin AP, et al. Antioxidants and narrow band-UVB in the treatment of vitiligo: a double-blind placebo controlled trial. Clin Exp Dermatol. 2007 Nov;32(6):631-6. DOI: [10.1111/j.1365-2230.2007.02514.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2007.02514.x).
- Alikhan A, Felsten LM, Daly M, Petronic-Rosic V. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. J Am Acad Dermatol. 2011;65(3):473-491. DOI: [10.1016/j.jaad.2010.11.061](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2010.11.061).
- Zhuang Y, Han C, Li B, Jin L, Dang E, Fang H, et al. NB-UVB irradiation downregulates keratin-17 expression in keratinocytes by inhibiting the ERK1/2 and STAT3 signaling pathways. Arch Dermatol Res. 2018 Mar;310(2):147-156. DOI: [10.1007/s00403-018-1812-1](https://doi.org/10.1007/s00403-018-1812-1).
- Cadet J, Sage E, Douki T. Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. Mutat Res. 2005;571(1-2):3-17. DOI: [10.1016/j.mrfmmm.2004.09.012](https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.09.012).
- Chiba K, Kawakami K, Sone T, Onoue M. Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 2003;16(4):242-51. DOI: [10.1159/000070847](https://doi.org/10.1159/000070847).
- Flindt-Hansen H, McFadden N, Eeg-Larsen T, Thune P. Effect of a new narrow-band UVB lamp on photocarcinogenesis in mice. Acta Derm Venereol. 1991;71(3):245-8.
- Walters IB, Burack LH, Coven TR, Gilleaudeau P, Krueger JG. Suberythemogenic narrow-band UVB is markedly more effective than conventional UVB in treatment of psoriasis vulgaris. J Am Acad Dermatol. 1999 Jun;40(6 Pt 1):893-900. DOI: [10.1016/s0190-9622\(99\)70076-9](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(99)70076-9).
- Thomas KS, Batchelor JM, Akram P, Chalmers JR, Haines RH, Meakin GD, et al. Randomized controlled trial of topical corticosteroid and home-based narrowband ultraviolet B for active and limited vitiligo: results of the HI-Light Vitiligo Trial. Br J Dermatol. 2021 May;184(5):828-839. DOI: [10.1111/bjd.19592](https://doi.org/10.1111/bjd.19592).
- Del Bino S, Duval C, Bernerd F. Clinical and Biological Characterization of Skin Pigmentation Diversity and Its Consequences on UV Impact. Int J Mol Sci. 2018 Sep 8;19(9):2668. DOI: [10.3390/ijms19092668](https://doi.org/10.3390/ijms19092668).
- Cardinali G, Kovacs D, Picardo M. Mechanisms underlying post-inflammatory hyperpigmentation: lessons from solar lentigo. Ann Dermatol Venereol. 2012 Dec;139(4): 148-52. DOI: [10.1016/S0151-9638\(12\)70127-8](https://doi.org/10.1016/S0151-9638(12)70127-8).
- Riley PA. Melanin. Int J Biochem Cell Biol. 1997 Nov;29(11):1235-9. DOI: [10.1016/s1357-2725\(97\)00013-7](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(97)00013-7).
- Kanwar AJ, Dogra S, Parsad D, Kumar B. Narrow-band UVB for the treatment of vitiligo: an emerging effective and well-tolerated therapy. Int J Dermatol. 2005 Jan;44(1):57-60. DOI: [10.1111/j.1365-4632.2004.02329.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02329.x).

ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕННЯ ШКІРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ

Сулим Г. А., Линдін М. С., Сікора К. О., Романюк А. М.

Резюме. Ультрафіолетове (УФ) випромінювання – це не тільки розповсюджений патогенний фактор зовнішнього середовища, який є потужним етіологічним чинником багатьох захворювань шкіри, але й терапевтичний інструмент. Вузько-смугове УФ випромінювання із піком потужності на довжині хвилі 311 нм (УФ-В) використовується для терапії таких дерматозів, як псоріаз, вітиліго, atopічний дерматит та ін.

Метою дослідження було оцінити морфологічні зміни епідермісу щурів після курсу УФ опромінення; динаміку, особливості та швидкість відновлення із оцінкою патологічних явищ в епідермісі та виміром товщини епідермісу, як маркера наявності патологічного процесу в ньому.

В експерименті було використано УФ випромінювання, що імітує вузько-смугову фототерапію дерматозів. Збір біологічного матеріалу для дослідження виконували від 30 тварин, по 6 особин на групу: інтактна група (група контролю), на 31-й (через день після останнього сеансу УФ-опромінення), 45-й, 61-й та 121-й день експерименту. Зміни порівнювалися зі зразками шкіри від інтактних тварин (контрольна група).

Найбільш інтенсивні патологічні зміни спостерігалися одразу після УФ опромінення, коли середні показники товщини епідермісу достовірно відрізнялися від нормальних показників ($p=0,002$). Протягом подальшого спостереження патологічні ознаки поширювалися на всю товщу епідермісу (дистрофічні зміни базальних кератиноцитів, потовщення шипуватого шару, дезорганізація зернистого) до локалізації здебільшого у верхніх шарах епідермісу (залишковий гіперкератоз). Результати морфометричних показників середньої товщини епідермісу також демонстрували статистично достовірне, на всіх етапах спостереження, тривале (121 день) збільшення середньої товщини епідермісу та збереження інших патологічних ознак. У той же час чітко відслідковувалася тенденція до поступового наближення середньої товщини епідермісу до групи контролю. Розрахунок прогнозу за методом лінійної регресії показав нормалізацію товщини епідермісу на 231-й день експерименту.

УФ опромінення призводить до виникнення ряду патологічних ознак в епідермісі. Об'єктивний морфометричний показник – середня товщина епідермісу зберігає статистично достовірне збільшення відносно групи контролю до 121 дня ($p=0,009$) та за розрахунковим прогнозом – до 231-го дня експерименту, а отже може бути використаний як один із маркерів оцінки патологічних змін епідермісу.

Ключові слова: ультрафіолетове випромінювання, епідерміс, шкіра, кератиноцити, відновлення, регенерація, реадaptaція, експеримент, патологічні зміни.

DYNAMICS OF SKIN RECOVERY IN RATS AFTER ULTRAVIOLET EXPOSURE

Sulym H. A., Lyndin M. S., Sikora K. O., Romaniuk A. M.

Abstract. Ultraviolet (UV) radiation is not only a widespread environmental pathogenic factor that is a powerful etiologic factor in many skin diseases, but also a therapeutic tool. Narrow-band UV radiation with a power peak at 311 nm (UV-B) is used to treat dermatoses such as psoriasis, vitiligo, atopic dermatitis, etc.

The aim of the study was to evaluate morphological changes in the epidermis of rats after a course of UV irradiation; dynamics, features and rate of recovery with an assessment of pathological phenomena in the epidermis and measurement of epidermal thickness as a marker of the presence of a pathological process in it.

UV radiation was used to simulate narrow-band phototherapy of dermatoses in the experiment. Collection of biological material for the study was performed from 30 animals, 6 individuals per group: intact group (control group), on the 31st (one day after the last session of UV irradiation), 45th, 61st and 121st days experiment. The changes were compared with skin samples from intact animals (control group).

The most intense pathological changes were observed immediately after UV irradiation, when the average epidermal thickness significantly differed from normal values ($p=0.002$). During further observation, pathological signs spread to the entire thickness of the epidermis (dystrophic changes in basal keratinocytes, thickening of the spinous layer, disorganization of the granular layer) to localization mainly in the upper layers of the epidermis (residual hyperkeratosis). The results of morphometric parameters of the average thickness of the epidermis also demonstrated a statistically significant, at all stages of observation, long-term (121 days) increase in the average thickness of the epidermis and the preservation of other pathological signs. At the same time, the tendency to gradual approximation of the average epidermal thickness to the control group was clearly observed. The calculation of the forecast by the method of linear regression showed the normalization of the epidermal thickness on the 231st day of the experiment.

UV irradiation leads to a number of pathological signs in the epidermis. The objective morphometric index – the average thickness of the epidermis retains a statistically significant increase relative to the control group up to 121 days ($p=0.009$) and according to the calculated forecast – up to 231 days of the experiment, and therefore can be used as one of the markers for assessing pathological changes in the epidermis.

Key words: ultraviolet radiation, epidermis, skin, keratinocytes, restoration, regeneration, readaptation, experiment, pathological changes.

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Sulym H. A.: <https://orcid.org/0000-0002-9822-9545> ^{ABCDEF}

Lyndin M. S.: <https://orcid.org/0000-0003-4385-3903> ^{ABCDEF}

Sikora K. O.: <https://orcid.org/0000-0002-4147-6879> ^{BDF}

Romaniuk A. M.: <https://orcid.org/0000-0003-2560-1382> ^{ABCDEF}

Conflict of interest: / Конфлікт інтересів:

The Authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Sikora Kateryna Oleksiivna / Сікора Катерина Олексіївна
Sumy State University, Educational and Scientific Medical Institute / Навчально-науковий медичний інститут
Сумського державного університету
Ukraine, 40018, Sumy, 31 Sanatorna str. / Адреса: Україна, 40018, м. Суми, вул. Санаторна 31
Tel.: +380500511359 / Тел.: +380500511359
E-mail: k.sikora@med.sumdu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 20.08.2023 / Стаття надійшла 20.08.2023 року

Accepted 01.02.2024 / Стаття прийнята до друку 01.02.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-443-449

UDC 611.12:611.018:611.013:576.311.348.3

Tverdokhlib I. V., Marchenko D. G.

PRENATAL CHANGES IN THE CONTRACTILE APPARATUS OF RAT VENTRICULAR MYOCARDIUM AFTER CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION OF MATERNAL ORGANISM

Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)

ivt@dmu.edu.ua

The object of research was the hearts of rat embryos and fetuses from the 14th day of prenatal ontogenesis to birth. Quantitative parameters of cardiomyocyte myofibrils in different zones of the ventricular myocardium were determined using transmission electron microscopy. It has been established that chronic alcohol intoxication of the maternal organism leads to inhibition of sarcomerogenesis and general damage of the spatial organization of the contractile apparatus of ventricular cardiomyocytes of embryos and fetuses. On the 14th day of embryogenesis, the absolute particular surface area of myofibrils and the degree of their orientation are significantly lower than normal values in different zones of the myocardium. In the period from the 14th day of embryogenesis to birth, the processes of alteration of cardiomyocyte contractile apparatus are manifested to varying degrees depending on the localization. In newborn rats after intrauterine exposure to alcohol, the absolute particular surface area of myofibrils in cardiomyocytes of the intramural zone exceeds normal values by 36.7% ($p < 0.05$) in the left ventricle and by 35.8% ($p < 0.05$) in the right ventricle. The values of the degree of myofibril orientation in the composition of all zones of the myocardium of both ventricles are significantly lower than normal values. The greatest damage is observed in the intramural zone of the free wall of both ventricles.

Key words: prenatal ontogenesis, rats, alcohol intoxication, heart, ventricular myocardium, myofibrils, ultrastructure.

Connection of the publication with planned research works.

The experimental study is a part of the research work "Histogenesis of the components of the cardiovascular system of humans and laboratory animals under normal and experimental conditions" (state registration number 0118U004730).

Introduction.

The alarming rate of growth in the level of alcohol consumption among women of reproductive age in combination with unplanned pregnancy increases the risk of developing fetal alcohol syndrome and other prenatal and perinatal disorders many times over [1, 2, 3]. It is assumed that high levels of ethanol, even temporary, at a critical stage of embryonic development can be more harmful than the entire duration of maternal alcohol intoxication [4]. Experimental and clinical studies have shown that ethanol freely diffuses through the placenta and quickly accumulates in the amniotic fluid, which leads to numerous fetal injuries [5]. Alcohol and its metabolites are teratogenic and toxic to all fetal or-

gans, including the heart [6, 7]. During prenatal development, they affect a wide range of metabolic pathways – from changes in the activity of DNA methyltransferases, which control the total epigenetics of fetal development [8], to the activation of oxidative stress, which changes the nature of protein synthesis, mitochondrial respiration, and the regulation of cell apoptosis [9]. Previous studies have shown that autophagy may also be a mechanism of ethanol cardiotoxicity due to adenosine monophosphate-activated protein kinase, with subsequent impairment of glucose and lipid metabolism [10].

Morphological and molecular biological studies have proven that long-term ethanol inhibits the synthesis and causes degradation of structural proteins of cardiomyocytes, especially myofibril proteins – actin, myosin, titin, nebulin, troponin, tropomyosin [11, 12, 13]. This leads to damage of myofibrils, their thinning, disorientation, loss of integrity, distortion of the configuration of telophragms and intercalated disks [11, 14]. It has been demonstrated that in cardiomyocytes under the conditions of ethanol action, myofibrils can be de-