

DYNAMICS OF RAT SKIN RECOVERY AFTER ULTRAVIOLET IRRADIATION WITH AND WITHOUT THE USE OF HYDROQUINONE

Sumy State University, Educational and Scientific Medical Institute (Sumy, Ukraine)

g.sulim@med.sumdu.edu.ua

Ultraviolet radiation is a natural stimulator of melanogenesis and a key factor in hyperpigmentation. It changes the microenvironment of tissues, stimulating melanin formation. At the same time, UV radiation is used in the treatment of certain skin diseases, but it can cause unwanted hyperpigmentation disorders, for the pharmacotherapy of which hydroquinone, a tyrosinase inhibitor, is used in practice.

The aim is to study the skin's reaction to UV irradiation and skin readaptation without intervention and with the use of hydroquinone.

Rats with pigmented fur were depilated in the interscapular region, after which they were subjected to suberythral UV irradiation (311 nm) 15 times over 30 days. The animals were divided into two groups: a free readaptation group and a hydroquinone depigmentation group. Skin biopsies were performed on days 31, 45, 61, and 121 of the experiment. The studies included staining with hematoxylin-eosin and the Fontana-Masson method. Morphometric analysis was performed using ImageJ software. Additionally, a synthetic "opacity index" (OI) was calculated as the product of epidermal thickness and density of melanosomes (MS).

UV irradiation increased the thickness of the epidermis and the percentage of the epidermal cross-sectional area occupied by melanosomes on day 31 (OI = 264.3%). The OI value in the free readaptation group gradually decreased to 163.6%, and in the hydroquinone group to 159.7%. The OI was lower in the hydroquinone group on days 45 and 61.

UV radiation increases the thickness of the epidermis and the density of melanosomes. OI remains elevated at all stages of the experiment. Hydroquinone effectively reduces the opacity index.

Key words: experiment, histology, rats, skin, melanin, in-vivo, melanocytes, receptors.

Connection of the publication with planned research works.

The work was carried out within the framework of the planned scientific theme of the Department of Pathological Anatomy of Sumy State University "Modern views on the morphogenesis of general pathological processes" (state registration number 0119U100887) and research work "Development of a method for diagnosing and predicting the course of tumors using cell adhesion molecules of cancer-embryonic antigen and cyclooxygenases" (state registration number 0123U100111).

Introduction.

Ultraviolet (UV) radiation is the most critical component of the solar light spectrum that induces photoaging of the skin and may serve as a trigger for the development of certain skin diseases and malignant neoplasms [1-2]. The loss of uniform skin tone is caused by increased synthesis and deposition of melanin. These changes are often exacerbated by excessive sun exposure and UV radiation. Acute UV exposure stimulates the epidermal melanogenic system, leading to dysfunction in the formation and accumulation of melanin. Clinically, this manifests as uneven pigmentation with areas of hyperpigmentation [3-4]. UV radiation is the main etiological factor in the development of solar lentigo, a type of hyperpigmentation disorder affecting up to 27% of the population and contributing to social stigmatization of patients [5]. Another condition, vitiligo, is the most common cause of skin depigmentation worldwide. Paradoxically, UV light is also a widely used treatment modality for this disease [6-8]. The UV spectrum is conventionally divided into three subgroups: UVA, UVB, and UVC [9]. The use of artificial monochromatic UVB radiation with a peak wavelength of 311 nm has become widespread in

phototherapy of skin disorders such as vitiligo, psoriasis, and atopic dermatitis [10-11].

Skin color is determined by its chromophores – hemoglobin, oxyhemoglobin, and intrinsic keratin – but melanin remains the most influential pigment in this context [12-13]. UV radiation activates melanocytes, enhancing melanogenesis – the process of melanin and melanosome (MS) production. Inevitable DNA damage in skin cells caused by high-energy UV waves generates a microenvironment that stimulates synthetic activity in melanocytes, increasing the number of MS. Despite the regulated and controlled use of UV radiation for therapeutic purposes, there remains an unpredictable risk of adverse effects such as hyperpigmentation, with a reported incidence of up to 15% [14-15].

Therapeutic options for the management of hyperpigmentation disorders are currently limited to the use of topical retinoids, combination agents, and physical modalities such as lasers and other high-energy devices [16]. Recently, the potential role of botulinum toxin in modulating UV-induced hyperpigmentation in dermatoses has been under investigation [17]. Among all available treatments, hydroquinone is considered the gold standard in managing hyperpigmentation due to its ability to inhibit tyrosinase, thereby blocking melanin synthesis [18].

The prolonged treatment duration (ranging from several months to years) often leads to poor patient compliance and satisfaction [19], emphasizing the need for further research into alternative approaches for modulating melanogenesis and pigmentation.

The aim of the study.

To determine the dynamics of changes in epidermal thickness, MS density and the synthetic parameter termed the "opacity index" (OI) of the epidermis after

the course of UV radiation without any other impact, and with usage of hydroquinone-based preparation.

Object and research methods.

A total of 54 laboratory animals were included in the experiment. The rats were divided into three groups: an intact group (6 animals) with no intervention (control group), and two experimental groups (24 animals in each group, of which 6 individuals were bred at each stage of the experiment). Group №1 received 30 days of UV exposure without any further treatment – named the free readaptation group. Group №2 was treated topically with a hydroquinone-based formulation (hydroquinone, glycolic acid, kojic acid, ascorbic acid, and excipients: petrolatum, emulsifier, water) on the irradiated skin area after the UV course.

The experimental area (scapular and interscapular region) in both groups was prepared by dry depilation using an electric trimmer. UV irradiation was performed using the “Sapphire” medical device equipped with a PL-S 9W/01/2P Philips (Poland) lamp. For each animal, the minimal erythema dose (MED) – the exposure time causing visible erythema within 24 hours – was determined. After a 3–7 day interval, a suberythral dose (75% of the MED duration) was used for the experiment to avoid visible skin reddening. UV sessions were conducted over 30 days (15 treatments, every other day) in accordance with established clinical experience of dermatoses phototherapy.

Skin punch biopsies were performed on days 31 (the day after the last UV exposure), 45, 61, and 121 of the experiment. For accurate comparison and analysis, similar biopsy procedures were conducted on rats from the intact group. Skin fragments were fixed in 3.4% buffered formalin for 24 hours, dehydrated, and embedded in paraffin blocks.

Epidermal morphometric analysis was performed on hematoxylin and eosin (H&E)-stained sections. MS were visualized using Fontana-Masson histochemical staining (fig. 1).

Specimens were examined under a “Carl Zeiss Primo Star” microscope (Germany) with a “Zeiss AxioCam ERc 5s” digital camera and “ZEN 2 (blue edition)” software.

Quantitative morphometry was performed using the National Institutes of Health ImageJ free software. The parameters assessed included: basal membrane length, epidermal area per cross-section, and mean epidermal thickness (calculated as area divided by basal membrane length).

MS count and area in the epidermis were analyzed using a modified custom algorithm in ImageJ. MS density defined as the ratio of MS area to total epidermal area.

OI was calculated as the product of mean epidermal thickness and the percentage of epidermal area occupied by MS.

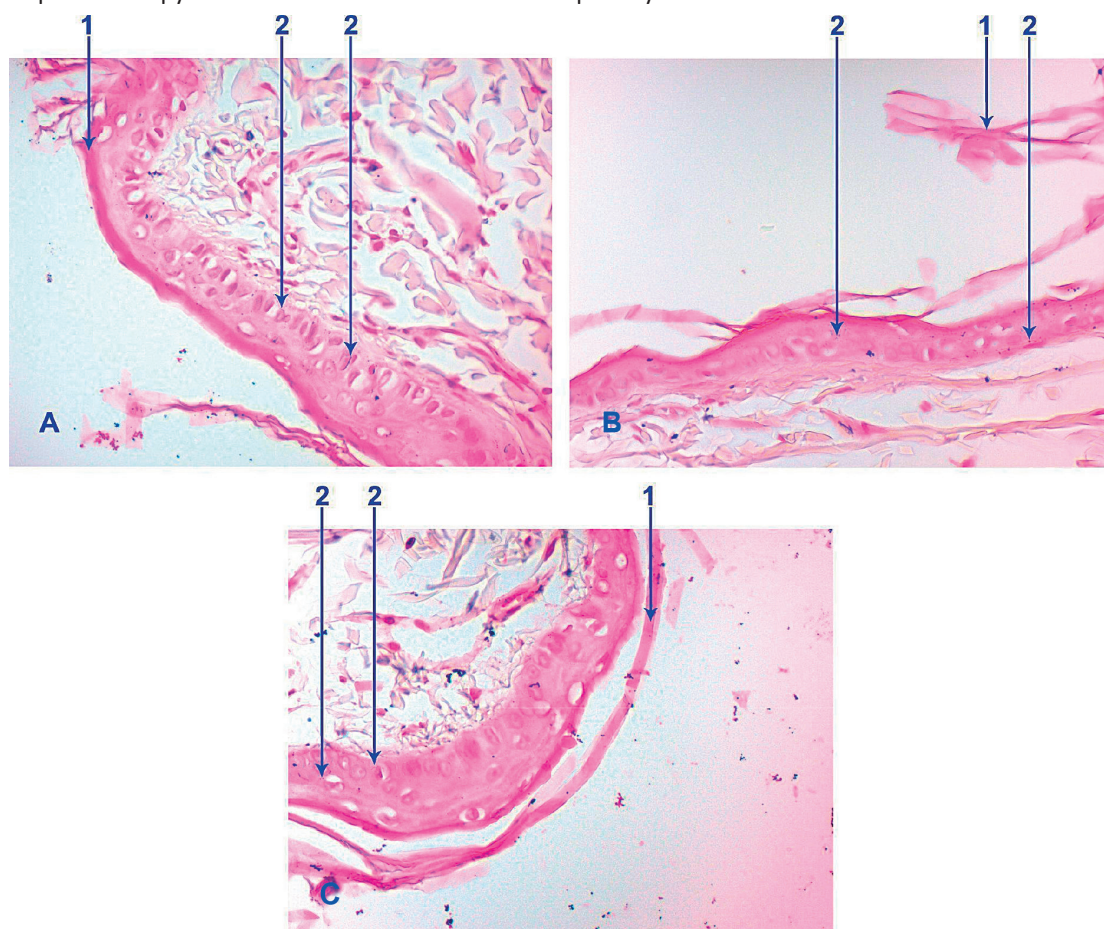


Figure 1 – Cross-section of rat skin after a course of UV irradiation on the day 45 of the experiment, examples of preparations from the free readaptation group (A), the hydroquinone depigmentation group (B), and the control group (C): 1 – epidermis. Fontana-Masson staining. Magnification $\times 400$. Designations: A – fragmented, with some thickening, B – significant desquamation of the stratum corneum, C – intact stratum corneum, 2 – MS of the epidermis, paranuclear, parabasal granules.

Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U-test in Google Sheets. A p-value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

The experimental studies were conducted in compliance with the requirements for humane treatment of laboratory animals, as regulated by the Law of Ukraine «On the Protection of Animals from Cruel Treatment» (No. 3447-IV of 21 February 2006) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986).

Research results and their discussion.

To interpret experimental data, baseline values were first established from the control group. The mean epidermal thickness in intact animals was $32.63 \pm 5.39 \mu\text{m}$, and the MS density (MS area per epidermal area) was $0.77 \pm 0.24\%$. Consequently, the control OI was 0.251 and was used as the 100% reference value for comparative purposes.

Table 1 – p-values when calculating the Mann-Whitney U-test for average epidermal thickness in experimental groups relative to the control group by day

	31/N	45/N	61/N	121/N	
p=	0.002	0.015	0.002	0.009	free readaptation
p=	0.002	0.48	0.18	0.002	hydroquinone group

Table 2 – p-values when calculating the Mann-Whitney U-test for the percentage of MS area to epidermis area in the experimental groups relative to the control group by day

	31/N	45/N	61/N	121/N	
p=	0.04	0.09	0.31	0.52	free readaptation
p=	0.04	0.48	0.94	0.75	hydroquinone depigmentation

On day 31 (first observation point post-UV exposure), all animals had undergone identical skin exposure. Epidermal thickness increased to $54.89 \pm 10.58 \mu\text{m}$ ($p = 0.002$) (table 1, fig. 2), MS density rose to $1.21 \pm 0.32\%$ ($p = 0.04$) (table 2, fig. 3), and the OI reached $54.89 \times 1.21\% = 0.664$, or 264.3% ($p < 0.001$, with only a 0.31% chance that a random control value would exceed this result) (table 3, fig. 4).

Examination of the skin of animals in the group that did not receive additional exposure after UV irradiation (free readaptation) on the day 45 of the experiment showed a maintenance of the increase in the average thickness of the epidermis to $40.8 \pm 4.8 \mu\text{m}$ ($p=0.015$) compared to the intact group (table 1).

MS density was $1.03 \pm 0.16\%$ (not statistically different from control, $p = 0.09$) (table 2), and OI = $40.8 \times 1.03\% = 0.42$ or 167.2%

($p < 0.001$; probability of a control value exceeding this result = 6.8%) (table 3).

On day 61, the average thickness of the epidermis was $49.93 \pm 11.16 \mu\text{m}$, which was significantly higher than the corresponding value for the control group ($p=0.002$); the MS density index was $0.91 \pm 0.13\%$, which shows a slight increase, not supported by statistical significance ($p=0.31$). OI = $49.93 \times 0.91\% = 0.454$ units, or 180.8% ($p < 0.001$ with a probability of a random value from the control group exceeding the value of the experimental group by 4.9%). On day 121, the average thickness of the epidermis reached $45.18 \pm 9.44 \mu\text{m}$, which is a statistically significant increase compared to the control group ($p=0.009$). The percentage of the epidermis cross-sectional area occupied by MS was $0.91 \pm 0.25\%$, which did not differ significantly from the corresponding values in the control group ($p=0.52$). The OI was $45.18 \times 0.91\% = 0.411$ units, or 163.6% ($p < 0.001$ with a 15% probability that the control group's random value would be greater than the corresponding value for the experimental animal group). Negative correlations were observed between experiment day and epidermal thickness value ($r = -0.355$) – the more time has passed since the start of the experiment, the thinner the epidermis becomes. There is a significant inverse correlation between the value of the day and the density of MS in the epidermis of the free readaptation group ($r = -0.735$). There is a clear correlation between the day of the experiment and the OI of the epidermis, with a correlation coefficient for the free readaptation group $r = -0.621$ – indicating gradual normalization over time in the free readaptation group.

In the hydroquinone depigmentation group, the average epidermal thickness index showed the following values: on the day 45 of the experiment – $33.05 \pm 4.81 \mu\text{m}$, which does not show a statistical difference from the control group ($p=0.48$) (table 1), on day 61 – $43.68 \pm 13.08 \mu\text{m}$ ($p=0.18$) and increased to $53.49 \pm 5.65 \mu\text{m}$ on day 121

Table 3 – p-values when calculating the Mann-Whitney U-test for epidermal OI in experimental groups relative to the control group by day

	31/N	45/N	61/N	121/N	
p=	4.247×10^{-13}	2.953×10^{-10}	4.98×10^{-11}	4.98×10^{-7}	free readaptation
p=	4.247×10^{-13}	0.032	0.0018	3.265×10^{-7}	hydroquinone depigmentation

Table 4 – p-values when calculating the Mann-Whitney U-test for average epidermal thickness between the hydroquinone depigmentation group and the free readaptation group by day

	day 31	day 45	day 61	day 121
hydroquinone depigmentation vs free readaptation, p=	×	0.026	0.24	0.13

Table 5 – p-values when calculating the Mann-Whitney U-test for % of MS area to epidermis area between the hydroquinone depigmentation group and the free readaptation group by day

	day 31	day 45	day 61	day 121
hydroquinone depigmentation vs free readaptation, p=	×	0.70	0.24	0.31

Table 6 – p-values when calculating the Mann-Whitney U test for epidermal OI between the hydroquinone depigmentation group and the free readaptation group by day

	day 31	day 45	day 61	day 121
hydroquinone depigmentation vs free readaptation, p=	×	3.99×10^{-6}	0.00016	0.91

of the experiment, showing a significant increase in this indicator compared to the control group ($p=0.002$). The correlation between the duration of the experiment and the average thickness of the epidermis for the hydroquinone group is insignificant but direct – $r=0.321$ – the longer the use of the hydroquinone product, the thicker the epidermis. The MS density index on the day 45 of the experiment in the hydroquinone depigmentation group was $0.92 \pm 0.27\%$, which does not show a statistically significant difference from the control group ($p=0.48$) (table 2). On day 61, the corresponding values were $0.79 \pm 0.2\%$ ($p=0.94$) and on day 121 – $0.75 \pm 0.2\%$ ($p=0.75$). The correlation between MS density values and the time elapsed after the end of UV irradiation is significant – $r = -0.763$. Regarding the synthetic indicator of epidermal OI in the hydroquinone depigmentation group, its value on the day 45 of the experiment was $33.05 \times 0.92\% = 0.304$ units, or 121.0% ($p=0.032$ with a probability of a random value from the control group being greater than the experimental group of 35%) (table 3). On the day 61 of the experiment, OI showed $43.68 \times 0.79\% = 0.345$ units, or 137.3% ($p=0.0018$ with a probability of 29% that the control group would exceed the experimental group). On the day 121 of the experiment, OI reached $53.49 \times 0.75\% = 0.401$ units, or 159.7% ($p<0.001$ with a probability of 15% that the control group's random indicator would exceed that of the experimental group). There is a weak inverse relationship between the day of the experiment and the OI of the epidermis, with a correlation coefficient for the hydroquinone depigmentation group of $r = -0.349$ – the more time passes since UV irradiation, the lower the OI becomes.

When comparing the epidermal thickness values between the experimental groups, a difference was determined only on the day 45 of the experiment, when the epidermal thickness in the hydroquinone group was lower than the corresponding value in the free readaptation group ($p=0.026$) (table 4).

Comparison of MS density values in experimental groups did not show statistical evidence of heterogeneity of indicators (table 5).

When comparing the epidermal OI values, there was a

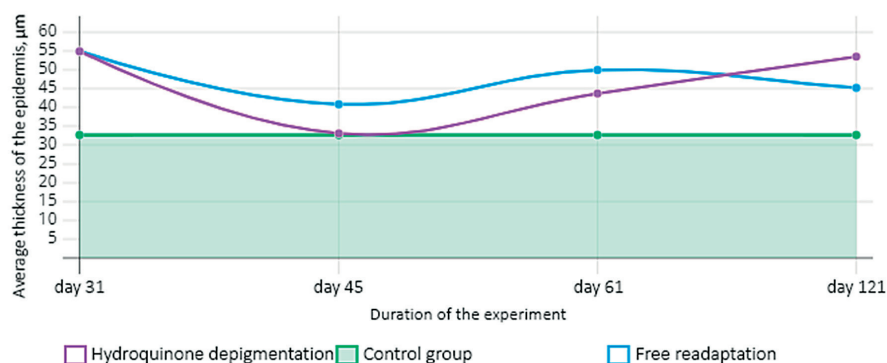


Figure 2 – Dynamics of restoration of the average thickness of the epidermis in the free readaptation group, depigmentation with hydroquinone, and the control group.

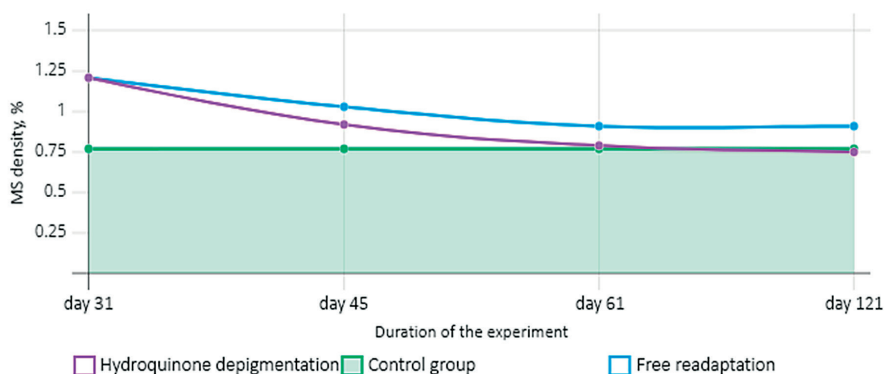


Figure 3 – Dynamics of recovery of % of MS area from epidermis area in experimental groups.

significant difference between the experimental groups. Thus, on the day 45 of the experiment, the arbitrary OI value from the free readaptation group was higher than that from the hydroquinone group with a probability of 82% ($p<0.001$) (table 6). On day 61, a significant difference was also observed – the OI of the hydroquinone group was lower ($p=0.00016$) with a 76% probability that the OI value of the hydroquinone group would be lower than that of the free readaptation group. It is noteworthy that on the day 121 of the experiment, the OI indicator suddenly lost its difference between the groups ($p=0.91$). The probability of the OI in the free readaptation group being higher was 51%.

During the study, we found an increase after UV irradiation and a gradual subsequent normalization of the average epidermal thickness index. This is fully consistent with existing scientific data, where the number of cells and their rows increases even in experiments with bioengineered skin containing human skin cells [20].

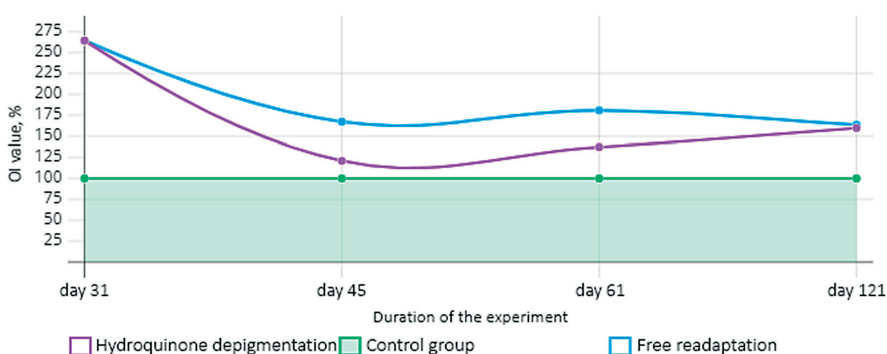


Figure 4 – Dynamics of OI recovery (in %) of the epidermis in experimental groups.

Two phenomena are present here at once – “day-45 phenomenon” – a certain decrease in epidermal thickness was observed in both groups (**fig. 2**), which was significantly stronger in the hydroquinone group. This phenomenon is possible due to the natural desquamation of the epidermis that had been exposed to cumulative UV radiation during the irradiation period – natural and enhanced with keratolytic components of the hydroquinone-based product. The second phenomenon is the increase in the thickness of the epidermis of the hydroquinone group by the day 121 of the experiment, when its thickness acquires a statistically significant increase in value relative to the control group, potentially due to mild contact dermatitis or adaptive hyperplasia – a clinically known side effect of hydroquinone-containing agents. MS density peaked on day 31 and gradually declined, reaching near-normal values by day 45. In our case, the increase was 67%, while in the experiment with human melanocyte cell culture it was significantly higher, but at the same time other studies indicate a change in the distribution of melanosomes, but not their number [21, 22]. No significant differences in MS density were found between the two experimental groups, although the graph (**fig. 3**) shows that the hydroquinone group has slightly lower MS density values, with the most noticeable difference on day 121 ($p=0.13$). Similarly, hydroquinone introduced into a medium containing human keratinocytes and melanocytes showed a decrease in the amount of melanin formed compared to the control group [23]. The introduction of the synthetic epidermal OI indicator showed interesting results. As expected, these values peaked on day 31, after which they began to decline. Thus, the OI indicator did not lose its statistical difference from the control group for both groups at any time point, maintaining an increase until the end of the experiment. At the same time, when comparing the OI between the experimental groups, it was found that the OI of the hydroquinone group was significantly

lower than that of the free readaptation group on the day 45 and day 61 of the experiment, and then, on the day 121 the statistical difference between the groups was lost, which is also clearly reflected in the graph (**fig. 4**). This value feature is conditioned due to the increase in epidermal thickness in the hydroquinone group on the day 121 (**fig. 2**), since the MS component does not have similar fluctuations (**fig. 3**). Thus, the change in OI occurred precisely because of the change in epidermal thickness. Similar data are reflected in an optical study of skin substitutes, where the degree of UV penetration through the surface depended on the number of cell rows (thickness) in the surface layer [20].

Conclusions.

UV irradiation leads to a statistically significant increase in epidermal thickness and melanosome density on day 31. Subsequently, the epidermis undergoes a wave-like thinning (“Day-45 phenomenon”) and shows signs of adaptive remodeling by day 121, especially in the hydroquinone group. Melanosome density progressively normalizes with no statistically significant differences between groups at later time points.

The OI on days 45 and 61 was significantly lower in the hydroquinone group. This difference disappeared by day 121 due to an increase in epidermal thickness.

Thus, it can be concluded that after UV exposure, the epidermis treated with hydroquinone remains more transparent than the untreated one. However, hydroquinone is most effective within the first month of daily use. After 30 days, application frequency should be reconsidered, as the agent continues to reduce melanosome density but may trigger epidermal reactivity.

Prospects for further research.

To investigate the effect of UV irradiation and laser cofactor on the amount and distribution of the melanosomal component, taking into account the thickness of the epidermis, which together act as an objective substrate for melanin pigmentation of the skin.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-226-237

УДК 616.5-092.4-092.9-085.849

Сулім Г. А.

ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕННЯ ШКІРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ З ТА БЕЗ ВИКОРИСТАННЯ ГІДРОХІНОНУ

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

g.sulim@med.sumdu.edu.ua

Ультрафіолетове випромінювання – природний стимулятор меланогенезу та ключовий чинник гіперпигментації. Воно змінює мікрооточення тканин, стимулюючи утворення меланіну. Водночас УФ-випромінювання використовується в терапії деяких шкірних захворювань, однак може спричиняти небажані гіперпигментні порушення, для фармакотерапії яких в практиці застосовують гідрохінон – інгібітор тирозинази.

Мета: дослідити реакцію шкіри на УФ-опромінення та реадaptaцію шкіри без втручання та при використанні гідрохінону.

Щурів із пігментованим хутром депілювали в міжлопатковій ділянці, після чого піддавали суберитемному УФ-опроміненню (311 нм) 15 разів за 30 днів. Тварин розділили на дві групи: групу вільної реадaptaції та групу депігментації гідрохіноном. Біопсії шкіри проводили на 31, 45, 61 та 121 день експерименту. Дослідження включали фарбування гематоксилін-еозином та за методом Фонтана-Масона. Морфометричний аналіз здійснювався в програмі ImageJ. Додатково обчислювався синтетичний «індекс непрозорості» (ІН) – добуток товщини епідермісу та щільності меланосом (МС).

УФ-опромінення підвищувало товщину епідермісу та % площі зрізу епідермісу, що займали меланосоми на 31 день (ІН=264,3%). Значення ІН у групі вільної реадaptaції поступово зменшувалася до 163,6%, у групі гідрохінону – до 159,7%. ІН був нижчим у групі гідрохінону на 45 і 61 день.

УФ-випромінювання підвищує товщину епідермісу та щільність меланосом. ІН зберігається підвищеним на всіх етапах експерименту. Гідрохінон ефективно знижує індекс непрозорості.

Ключові слова: експеримент, гістологія, щури, шкіра, меланін, *in-vivo*, меланоцити, рецептори.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота виконана у рамках планової наукової теми кафедри патологічної анатомії СумДУ «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів» (номер державної реєстрації 0119U100887) та науково-дослідної роботи «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигенази» (номер державної реєстрації 0123U100111).

Вступ.

Ультрафіолетове (УФ, UV) випромінювання є найбільш важливою складовою спектру сонячного світла, яке спричиняє фотостаріння шкіри і може виступати тригером розвитку деяких захворювань шкіри та злоякісних новоутворень [1-2]. Втрата рівного тону шкіри викликана посиленням синтезом і відкладенням меланіну. Ці зміни часто посилюються під впливом надлишку сонця та УФ випромінювання. Так, гостре УФ-опромінювання стимулює епідермальну меланогенну систему, що призводить до дисфункції утворення та накопичення меланіну. Клінічно це проявляється у вигляді нерівномірної пігментації з ділянками гіперпігментації [3-4]. УФ є основним етіологічним чинником в розвитку сонячного лентиго – різновиду гіперпігментного захворювання, що зустрічається у 27% населення, створюючи соціальну стигматизацію пацієнтів [5]. А таке захворювання, як вітіліго, є найбільш частою в світі причиною депігментації шкіри. УФ світло водночас є поширеним методом лікування цього захворювання [6-8]. Спектр УФ випромінювання поділяють на три підгрупи: УФ-А, УФ-В та УФ-С (UVA, UVB, UVC) [9]. Застосування штучного монохроматичного УФ-В випромінювання з піковою довжиною хвилі 311 нм знайшло широке використання у фототерапії шкірних захворювань, таких як вітіліго, псоріаз і атопічний дерматит [10-11].

Колір шкіри визначається її хромофорами – гемоглобіном, оксигемоглобіном, власне кератином, але найбільшу питому вагу визначає саме пігмент меланін [12-13]. Під дією УФ-випромінювання активуються меланоцити, посилюючи меланогенез – процес вироблення меланіну та меланосом (МС). Неухильне ушкодження ДНК клітин шкіри високоенергетичними хвилями УФ створює мікрооточення, що стимулює синтетичні процеси в меланоцитах, збільшуючи число МС. Не дивлячись на складний та контрольований підхід до використання УФ випромінювання в терапевтичних цілях, зберігається слабко прогнозований ризик побічних ефектів у вигляді гіперпігментації та може сягати 15% [14-15].

Можливості терапевтичного менеджменту гіперпігментних захворювань обмежені використанням топічних ретиноїдів, комбінованих засобів та фізичних методів лікування – лазерів та інших високоенергетичних девайсів [16]. На сьогодні вивчається можливість впливу ботулінікотоксину на розвиток гіперпігментації, викликаної УФ-терапією дерматозів [17]. Серед всіх методів саме гідрохінон вважається

золотим стандартом лікування гіперпігментації, що діє шляхом інгібування тирозинази, перешкоджаючи синтезу меланіну [18].

Значна тривалість лікування (від кількох місяців до років) може призвести до низького рівня комплаєнсу та задоволеності пацієнтів [19], що спонукає до більш детального вивчення варіантів впливу на меланогенез та пігментацію шкіри загалом.

Мета дослідження.

Встановлення динаміки змін товщини епідермісу, щільності МС та синтетичного показника «індексу непрозорості» (ІН) епідермісу після курсу УФ-опромінень без додаткових чинників та з використанням препарату на основі гідрохінону.

Об'єкт і методи дослідження.

В експеримент було залучено 54 тварини. Щурів було поділено на інтактну групу (6 особин), де тварини не отримували жодного впливу – групу контролю і 2 експериментальні групи (по 24 тварини, з яких 6 особин виводили на кожному відрізу експерименту). №1, або тварини, що після 30 днів УФ сеансів не отримували додаткового впливу – група вільної адаптації; №2, або такі, на шкіру експериментальної ділянки яких після курсу УФ застосовували топічний препарат із гідрохіноном (гідрохінон, гліколева кислота, койєва кислота, аскорбінова кислота, допоміжні речовини: вазелін, емульгатор, вода).

Експериментальних тварин в обох групах було підготовлено шляхом депіляції шкіри в експериментальній ділянці – проекції лопаток та міжлопаткової ділянки сухим шляхом із використанням електричного тримера. В якості випромінювача УФ використано медичний прилад «Сапфір», із лампою PL-S 9W/01/2P Philips (Польща). Для кожної тварини в експерименті було визначено мінімальну еритемну дозу (МЕД) – таку тривалість впливу УФ, за якої протягом 24 годин розвивалася об'єктивно помітна еритема шкіри. Після перерви в 3-7 днів для проведення експерименту було використано суберитемну дозу УФ-опромінювання (75% тривалості МЕД), за якої не виникало почервоніння експериментальної ділянки шкіри. Сеанси УФ опромінювання було проведено відповідно до клінічного досвіду фототерапії дерматозів – 15 процедур за 30 днів із рівними інтервалами (частота через день).

Для відбору препаратів шкіри було проведено панч-біопсії на 31-ий (наступний день після завершення курсу УФ-опромінювання), 45-ий, 61-ий та 121-ий день експерименту. Для коректного висвітлення та аналізу змін шкіри аналогічним чином досліджували шкіру щурів інтактної групи, що слугувало контролем. Фрагменти біоптатів шкіри були зафіксовані протягом 24 годин у розчині забуференого формаліну (3,4%), зневоднені та поміщені у парафінові блоки.

Епідерміс, для виміру його морфометричних характеристик, було візуалізовано класичним забарвленням гематоксилін еозином.

МС було візуалізовано із використанням гістохімічного забарвлення за методом Фонтана-Масона (рис. 1).

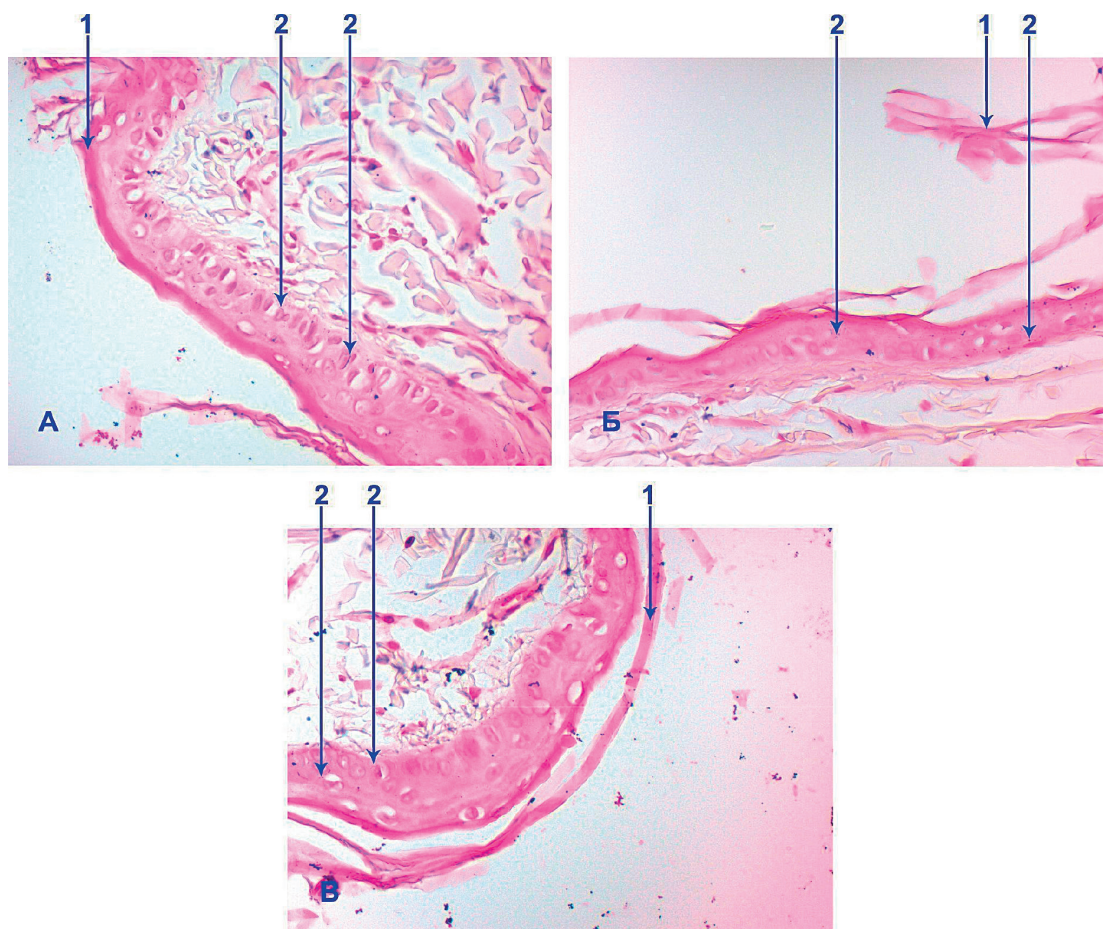


Рисунок 1 – Поперечний зріз шкіри щурів після курсу УФ опромінення на 45-ий день експерименту, приклад препарату із групи вільної реадaptaції (А), групи депігментації гідрохіноном (Б) та групи контролю (В). Забарвлення Фонтана-Масона. Збільшення: $\times 400$. Позначення: 1 – епідерміс: А – фрагментований, із певним ущільненням, Б – значна десквамація рогового шару, В – цілісний роговий шар, 2 – МС епідермісу, парануклеарні, при базальні гранули.

Препарати 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).

За допомогою програмного продукту Національного інституту здоров'я США із вільним поширенням – ImageJ проводилася оцінка значення довжини базальної мембрани, площі, що на зрізі займає епідерміс, і середня товщина епідермісу (частка від ділення площі на протяжність базальної мембрани).

Оцінка кількості та загальної площі МС в епідермісі проводилася на основі власного алгоритму до програми ImageJ із модифікацією. Щільність МС виражалася як відношення площі МС до площі епідермісу.

ІН вираховувався як добуток середньої товщини епідермісу та % площі зрізу епідермісу, що сумарно займають МС.

Статистичне дослідження достовірності відмінності отриманих результатів проводили за допомогою розрахунку U-критерію Манна-Уїтні в середовищі Google Sheets. Показник $p \leq 0,05$ вважали таким, що відповідає статистично достовірній відмінності досліджуваних множин даних.

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською кон-

венцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Результати дослідження та їх обговорення.

Для проведення порівняння цільових морфометричних значень в експериментальних групах тварин було спершу встановлено такі значення для інтактної групи. Так, середня товщина епідермісу в групі контролю становила $32,63 \pm 5,39$ мкм. Площа зрізу епідермісу, яку займають МС склала $0,77 \pm 0,24\%$. Таким чином ІН для епідермісу контрольної групи становив $0,251$ од. Цей показник також взято за 100% для наочного опису та порівняння ІН в експериментальних групах між собою та по відношенню до групи контролю.

Дизайн експерименту передбачає, що в день першого виводу (31-ий день експерименту) тварини всіх експериментальних груп підлягають однаковому впливу на шкіру. Таким чином товщина епідермісу на 31-ий день експерименту збільшилася до $54,89 \pm 10,58$ мкм ($p=0,002$) (табл. 1, рис. 2); щільність МС зросла до $1,21 \pm 0,32\%$ ($p=0,04$) (табл. 2, рис. 3), отже $ІН=54,89 \times 1,21\% = 0,664$ од., або $264,3\%$ ($p<0,001$ із вірогідністю довільного значення групи контролю бути більшим, за відповідне значення групи експерименту $0,31\%$) (табл. 3, рис. 4).

Дослідження шкіри тварин групи, що не отримувала після УФ опроміненя додаткового впливу (вільна реадaptaція) на 45-ий день експерименту показали утримання збільшення середньої товщини

епідермісу до $40,8 \pm 4,8$ мкм, ($p=0,015$) по відношенню до інтактної групи (табл. 1).

Щільність МС в групі вільної реадaptaції на 45-ий день експерименту склала $1,03 \pm 0,16\%$, що вище за норму, але не набуває статистичної достовірності ($p=0,09$) (табл. 2). ІН епідермісу = $40,8 \times 1,03\% = 0,42$ од., або $167,2\%$ ($p<0,001$, із вірогідністю, що довільне значення групи контролю буде більшим за експериментальну $6,8\%$) (табл. 3).

На 61-ий день середня товщина епідермісу склала $49,93 \pm 11,16$ мкм, що достовірно більше за відповідне значення групи контролю ($p=0,002$); показник щільності МС склав $0,91 \pm 0,13\%$, що демонструє незначне підвищення, не підкріплене статистичною достовірністю ($p=0,31$). ІН = $49,93 \times 0,91\% = 0,454$ од., або $180,8\%$ ($p<0,001$ із вірогідністю випадкового значення із групи контролю перевищити значення експериментальної групи $4,9\%$). На 121-ий день середня товщина епідермісу сягала $45,18 \pm 9,44$ мкм, що утримує статистично достовірне збільшення по відношенню до групи контролю ($p=0,009$). % площі зрізу епідермісу, що його займають МС склав $0,91 \pm 0,25\%$, що не має статистично достовірних розбіжностей з відповідними значеннями групи контролю ($p=0,52$). ІН склав $45,18 \times 0,91\% = 0,411$ од., або $163,6\%$ ($p<0,001$ із вірогідністю випадкового значення групи контролю виявитись більшим за відповідне значення групи експериментальних тварин 15%). Між днем експерименту та середньою товщиною епідермісу спостерігається кореляція із коефіцієнтом $r = -0,355$ – чим більше часу від початку експерименту, тим менша товщина епідермісу. Спостерігається значна зворотня кореляція між значенням дня та щільністю МС в епідермісі групи вільної реадaptaції $r = -0,735$ – пізніший вивід тварин – менше МС. Між днем експерименту та ІН епідермісу існує чіткий зв'язок, коефіцієнт кореляції для групи вільної реадaptaції $r = -0,621$ – чим більше часу проходить від УФ опромінення, тим менший стає ІН.

У групі депігментації гідрохіноном показник середньої товщини епідермісу показав наступні значення: 45-ий день експерименту – $33,05 \pm 4,81$ мкм, що не демонструє статистичної відмінності від групи контролю ($p=0,48$) (табл. 1), на 61-ий день – $43,68 \pm 13,08$ мкм ($p=0,18$) та зростає до $53,49 \pm 5,65$ мкм – на 121-ий день експерименту, показуючи достовірне збільшення цього показника по відношенню до групи контролю ($p=0,002$). Кореляція між терміном експерименту та середньою товщиною епідермісу для групи гідрохінону незначна, але пряма – $r=0,321$ – чим триваліше застосування засобу із гідрохіноном, тим товщий епідерміс. Показник щільності МС на 45-ий день експерименту в групі депігментації гідрохіноном склав $0,92 \pm 0,27\%$, що не виявляє статистично значущої відмінності від контрольної групи ($p=0,48$) (табл. 2). На

Таблиця 1 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для середніх товщин епідермісу в експериментальних групах по відношенню до контролю по днях

	31/N	45/N	61/N	121/N	
$p=$	0.002	0.015	0.002	0.009	вільна реадaptaція
$p=$	0.002	0.48	0.18	0.002	група гідрохінону

Таблиця 2 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для % площі МС до площі епідермісу в експериментальних групах по відношенню до групи контролю по днях

	31/N	45/N	61/N	121/N	
$p=$	0.04	0.09	0.31	0.52	вільна реадaptaція
$p=$	0.04	0.48	0.94	0.75	депігментація гідрохіноном

61-ий день відповідні показники склали $0,79 \pm 0,2\%$ ($p=0,94$) та на 121-ий день – $0,75 \pm 0,2\%$ ($p=0,75$). Кореляція значень щільності МС та часом, що пройшов після закінчення УФ опромінення значна – $r = -0,763$. Щодо синтетичного показника ІН епідермісу в групі депігментації гідрохіноном, його значення на 45-ий день експерименту склало $33,05 \times 0,92\% = 0,304$ од., або $121,0\%$ ($p=0,032$ із вірогідністю випадкового значення із групи контролю виявитись більшим за експериментальну групу 35%) (табл. 3). На 61-ий день експерименту ІН показав $43,68 \times 0,79\% = 0,345$ од., або $137,3\%$ ($p=0,0018$ із вірогідністю довільного показника із групи контролю перевищити показник експериментальної групи 29%). На 121-ий день експерименту ІН досяг $53,49 \times 0,75\% = 0,401$ од., або $159,7\%$ ($p<0,001$ із вірогідністю довільного показника із групи контролю перевищити показник експериментальної групи 15%). Між днем експерименту та ІН епідермісу існує слабкий зворотній зв'язок, коефіцієнт кореляції

Таблиця 3 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для ІН епідермісу в експериментальних групах по відношенню до групи контролю по днях

	31/N	45/N	61/N	121/N	
$p=$	4.247×10^{-13}	2.953×10^{-10}	4.98×10^{-11}	4.98×10^{-7}	вільна реадaptaція
$p=$	4.247×10^{-13}	0.032	0.0018	3.265×10^{-7}	депігментація гідрохіноном

Таблиця 4 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для середніх товщин епідермісу між групою депігментації гідрохіноном та вільної реадaptaції по днях

	31-ий д.	45-ий д.	61-ий д.	121-ий д.
депігментація гідрохіноном до вільної реадaptaції, $p=$	×	0.026	0.24	0.13

Таблиця 5 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для % площі МС до площі епідермісу між групою депігментації гідрохіноном та вільної реадaptaції по днях

	31-ий д.	45-ий д.	61-ий д.	121-ий д.
депігментація гідрохіноном до вільної реадaptaції, $p=$	×	0.70	0.24	0.31

Таблиця 6 – Значення p при підрахунку U-критерію Манна-Уїтні для ІН епідермісу між групою депігментації гідрохіноном та вільної реадaptaції по днях

	31-ий д.	45-ий д.	61-ий д.	121-ий д.
депігментація гідрохіноном до вільної реадaptaції, $p=$	×	3.99×10^{-6}	0.00016	0.91

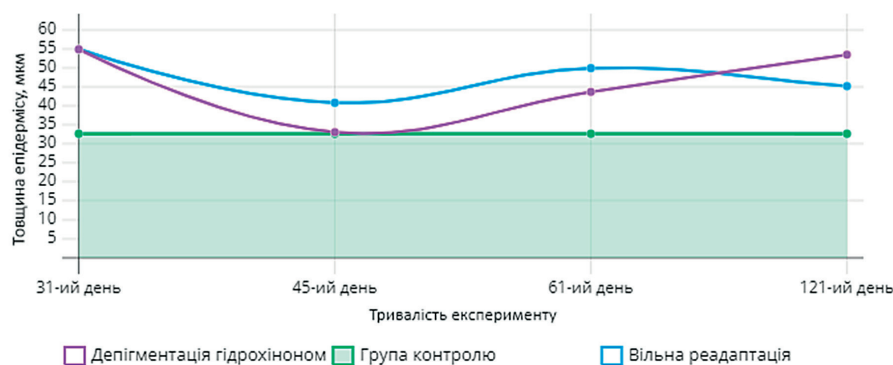


Рисунок 2 – Динаміка відновлення середньої товщини епідермісу групи вільної рееадаптації, депігментації гідрохіноном та групи контролю.

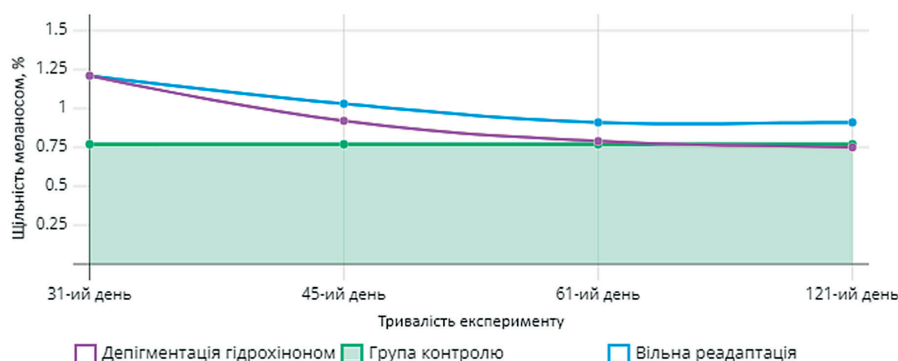


Рисунок 3 – Динаміка відновлення % площі МС від площі епідермісу в експериментальних групах.

для групи депігментації гідрохіноном $r = -0,349$ – чим більше часу проходить від УФ опромінення, тим менший стає ІН.

При порівнянні значень товщини епідермісу між експериментальними групами визначено різницю тільки на 45-ий день експерименту, коли товщина епідермісу у групі використання гідрохінону менша за відповідне значення групи вільної рееадаптації ($p=0,026$) (табл. 4).

Порівняння значень щільності МС в експериментальних групах не показало статистичних підтверджень різномірності показників (табл. 5).

При порівнянні значень ІН епідермісу була наявна значна відмінність між експериментальними групами. Так на 45-ий день експерименту довільне значення ІН із групи вільної рееадаптації було більшим за групу гідрохінону із вірогідністю 82% ($p<0,001$) (табл. 6). На 61-ий день так само спостерігалася достовірна відмінність – ІН групи гідрохінону був меншим

кератолітичними компонентами засобу із гідрохіноном десквамацію епідермісу, що зазнав накопичувального УФ впливу протягом періоду опромінення. Друге явище – наростання товщини епідермісу групи гідрохінону до 121-го дня експерименту, коли його товщина набуває статистично достовірного підвищення значення по відношенню до групи контролю, що може бути пояснене виникненням дерматиту та адаптаційного потовщення епідермісу у відповідь на тривале та регулярне використання зовнішнього засобу. Це знаходить емпіричне підтвердження в клінічній практиці, де дерматит – можливий побічний ефект для засобів, що містять гідрохінон. Меланосомальний компонент статистично достовірно підвищується на 31-ий день та планомірно та поступово повертається до значень норми у пізніші терміни спостереження. Так статистична відмінність втрачається вже на 45-ий день для обох груп. В нашому випадку наростання склало 67%, тоді як в експерименті з культурою клітин із людських меланоцитів значно більший, але в той же час інші дослідження вказують на зміну розподілу меланосом, але не їх кількості [21, 22]. Достовірних відмінностей значення щільності МС не визначено між обох експериментальних груп, хоча на графічному представленні (рис. 3) помітно, що група гідрохінону має дещо

($p=0,00016$) із вірогідністю 76% значення ІН із групи гідрохінону виявиться меншим за значення групи вільної рееадаптації. Примітно, що на 121-ий день експерименту показник ІН різко втратив відмінність між групами ($p=0,91$). Вірогідність ІН із групи вільної рееадаптації виявиться більшим склала 51%.

У ході дослідження нами виявлено збільшення після УФ опромінення та поступова подальша нормалізація показника середньої товщини епідермісу. Це цілком відповідає наявним науковим даним, де кількість клітин та їх рядів зростає навіть у експерименті із біоінженерною шкірою з клітинами шкіри людини [20]. Тут наявні одразу 2 явища – «феномен 45-го дня» – певне зменшення товщини епідермісу у обох групах (рис. 2), достовірно сильніше в групі гідрохінону. Це явище можливе через природну та посилену

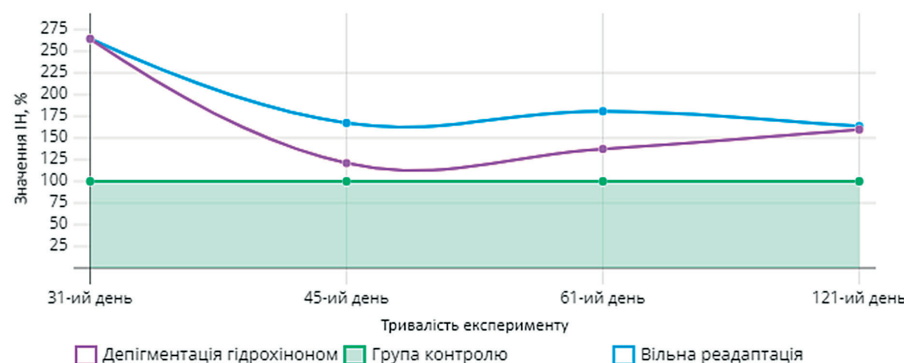


Рисунок 4 – Динаміка відновлення ІН (в %) епідермісу в експериментальних групах.

через природну та посилену кератолітичними компонентами засобу із гідрохіноном десквамацію епідермісу, що зазнав накопичувального УФ впливу протягом періоду опромінення. Друге явище – наростання товщини епідермісу групи гідрохінону до 121-го дня експерименту, коли його товщина набуває статистично достовірного підвищення значення по відношенню до групи контролю, що може бути пояснене виникненням дерматиту та адаптаційного потовщення епідермісу у відповідь на тривале та регулярне використання зовнішнього засобу. Це знаходить емпіричне підтвердження в клінічній практиці, де дерматит – можливий побічний ефект для засобів, що містять гідрохінон. Меланосомальний компонент статистично достовірно підвищується на 31-ий день та планомірно та поступово повертається до значень норми у пізніші терміни спостереження. Так статистична відмінність втрачається вже на 45-ий день для обох груп. В нашому випадку наростання склало 67%, тоді як в експерименті з культурою клітин із людських меланоцитів значно більший, але в той же час інші дослідження вказують на зміну розподілу меланосом, але не їх кількості [21, 22]. Достовірних відмінностей значення щільності МС не визначено між обох експериментальних груп, хоча на графічному представленні (рис. 3) помітно, що група гідрохінону має дещо

нижчі показники щільності МС, найбільше різниця помітна на 121-ий день ($p=0,13$). Так само гідрохінон, введений в середовище із людськими кератиноцитами та меланоцитами показав зменшення кількості утвореного меланіну, порівняно до групи контролю [23]. Цікаві результати продемонструвало введення синтетичного показника ІН епідермісу. Очікувано, пік цих значень припав на 31-ий день, після чого почав знижуватися. Так показник ІН не втратив статистичної відмінності від групи контролю для обох груп у жодному з виводів, зберігши підвищення до кінця експерименту. У той же час при порівнянні ІН між експериментальними групами виявилось, що ІН групи гідрохінону достовірно менший за групу вільної ретадаптації на 45-ий та 61-ий дні експерименту, після чого на 121-ий день відбулась втрата статистичної відмінності між групами, що також чітко відбивається у графічному представленні (рис. 4). Така характеристика значення зумовлена саме наростанням товщини епідермісу в групі гідрохінону на 121-ий день (рис. 2), адже МС компонент не має подібних коливань (рис. 3). Отже зміна ІН відбулася саме через зміну товщини епідермісу. Подібні дані відображені у оптичному дослідженні заміни шкіри, де ступінь проходження УФ через поверхню залежав від кількості рядів клітин (товщини) поверхневого шару [20].

Висновки.

УФ опромінення призводить до достовірного підвищення товщини епідермісу, щільності меланосом

у товщі епідермісу порівняно з групою контролю на 31-ий день. Товщини епідермісу надалі зменшуються, демонструючи тимчасове хвилюподібне стоншення («феномен 45-го дня») та розвиток імовірних адаптаційних явищ в епідермісі до 121-го дня в групі депігментації гідрохіноном. Щільність меланосом поступово нормалізується але без достовірних відмінностей значень між групами.

ІН епідермісу на 45-ий та 61-ий дні експерименту достовірно нижче в групі депігментації гідрохіноном, після чого зрівнюється за рахунок збільшення товщини епідермісу.

Таким чином можна стверджувати, що після курсу УФ опромінення епідерміс під впливом гідрохінону прозоріший за епідерміс, що відновлюється без втручання. У той же час використання засобів на основі гідрохінону ефективно в перший місяць використання із щоденною частотою. Через 30 днів щоденного використання частота застосування має бути переглянута, адже засіб продовжує знижувати щільність меланосом, але імовірно провокує реакцію епідермісу.

Перспективи подальших досліджень.

Дослідити вплив УФ опромінення та лазерного фактору на кількість та дистрибуцію меланосомального компоненту з урахуванням аспекту товщини епідермісу, що разом виступають об'єктивним субстратом меланінової пігментації шкіри.

References / Література

- Pfeifer GP. Mechanisms of UV-induced mutations and skin cancer. *Genome Instabil Dis.* 2020;1(3):99-113. DOI: [10.1007/s42764-020-00009-8](https://doi.org/10.1007/s42764-020-00009-8).
- Ke Y, Wang XJ. TGF β signaling in photoaging and UV-induced skin cancer. *J Invest Dermatol.* 2021;141(4):1104-1110. DOI: [10.1016/j.jid.2020.11.007](https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.11.007).
- Markiewicz E, Karaman-Jurukovska N, Mammone T, Idowu OC. Post-inflammatory hyperpigmentation in dark skin: molecular mechanism and skincare implications. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022;15:2555-2565. DOI: [10.2147/CCID.S385162](https://doi.org/10.2147/CCID.S385162).
- Swalwell H, Latimer J, Haywood RM, Birch-Machin MA. Investigating the role of melanin in UVA/UVB- and hydrogen peroxide-induced cellular and mitochondrial ROS production and mitochondrial DNA damage in human melanoma cells. *Free Radic Biol Med.* 2012;52(3):626-634. DOI: [10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.019](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.019).
- Kerob DK, Passeron T, Dreno B, Wei L, Morita AA, Leok C, et al. Prevalence of solar lentigo, impact on quality of life and social stigmatization: Results of the first large international survey. *J Am Acad Dermatol.* 2024;91(3):AB286.
- Wang E, Rodrigues M. An update and review of narrowband ultraviolet B phototherapy for vitiligo. *Dermatol Rev.* 2022;3(5):326-335. DOI: [10.1002/der2.142](https://doi.org/10.1002/der2.142).
- 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).
- Bergqvist C, Ezzedine K. Vitiligo: a review. *Dermatology.* 2020;236(6):571-592. DOI: [10.1159/000506103](https://doi.org/10.1159/000506103).
- Nunomura CY, Sousa SJDFE. Ultraviolet radiation and the human eye. *Arq Bras Oftalmol.* 2022;86(6):e2021-0354. DOI: [10.5935/0004-2749.2021-0354](https://doi.org/10.5935/0004-2749.2021-0354).
- Gelfand JM, Armstrong AW, Lim HW, Feldman SR, Johnson SM, Claiborne WCC, et al. Home- vs Office-Based Narrowband UV-B Phototherapy for Patients With Psoriasis: The LITE Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol.* 2024;160(12):1320-1328. DOI: [10.1001/jamadermatol.2024.3897](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2024.3897). Erratum in: *JAMA Dermatol.* 2025;161(3):342. DOI: [10.1001/jamadermatol.2024.6431](https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2024.6431).
- 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;184(5):828-839. DOI: [10.1111/bjd.19592](https://doi.org/10.1111/bjd.19592).
- Ortonne JP. Normal and abnormal skin color. *Ann Dermatol Venerol.* 2012;139:S125-S129.
- Sulym H, Lyndin M, Sulym L, Kiptenko L, Sikora Y, Sikora V, Romaniuk A. Detection of melanin in the rat skin. *Pol Merkuri Lekarski.* 2022;50(295):21-24.
- Cardinali G, Kovacs D, Picardo M. Mechanisms underlying post-inflammatory hyperpigmentation: lessons from solar lentigo. *Ann Dermatol Venerol.* 2012;139(1):148-152. DOI: [10.1016/S0151-9638\(12\)70127-8](https://doi.org/10.1016/S0151-9638(12)70127-8).
- Minh PPT, Minh TT, Thi PH, Ha GQT, Thi TB, Tirant M, Le Huu D. New-insight UVB Treatment for Psoriasis Vulgaris in Vietnamese Patients. *Indian J Dermatol.* 2024;69(1):32-37. DOI: [10.4103/ijid.134_23](https://doi.org/10.4103/ijid.134_23).
- Mar K, Khalid B, Maazi M, Ahmed R, Wang OJ, Khosravi-Hafshejani T. Treatment of Post-Inflammatory Hyperpigmentation in Skin of Colour: A Systematic Review. *J Cutan Med Surg.* 2024;28(5):473-480. DOI: [10.1177/12034754241265716](https://doi.org/10.1177/12034754241265716).
- Vachiramon V, Kositkuljorn C, Leerunyakul K, Rattananukrom T, Jurairattanaporn N. A Study of Botulinum Toxin A for Ultraviolet-Induced Hyperpigmentation: A Randomized Controlled Trial. *Dermatol Surg.* 2021;47(5):e174-e178. DOI: [10.1097/DSS.0000000000002943](https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000002943).
- Haddad AL, Matos LF, Brunstein F, Ferreira LM, Silva A, Costa Jr D. A clinical, prospective, randomized, double-blind trial comparing skin whitening complex with hydroquinone vs. placebo in the treatment of melasma. *Int J Dermatol.* 2003;42(2):153-156. DOI: [10.1046/j.1365-4362.2003.01621.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.2003.01621.x).
- Nautiyal A, Wairkar S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021;34(6):1000-1014.
- Ruiz-López J, Cardona JC, Garzón I, Pérez MM, Alaminos M, Chato-Astrain J, & Ionescu AM. Optical behavior of human skin substitutes: absorbance in the 200–400 nm UV range. *Biomedicines* 2022;10(7):1640. DOI: [10.3390/biomedicines10071640](https://doi.org/10.3390/biomedicines10071640).

21. Martic I, Wedel S, Jansen-Dürr P, & Cavinato M. A new model to investigate UVB-induced cellular senescence and pigmentation in melanocytes. *Mechanisms of Ageing and Development* 2020;190:111322. DOI: [10.1016/j.mad.2020.111322](https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111322).
22. Vie K, Fitoussi R, Mathieu E, Benetti LD, Gooris E, & Hemmerlé J. Ultrastructural assessments of the melanosome distribution patterns and pigmentation features in human epidermal cells after UV irradiation and kojic acid treatment. *International Journal of Cosmetic Science* 2009;31(6):461-473. DOI: [10.1111/j.1468-2494.2009.00529.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00529.x).
23. Ribero S, Romani A, Mattozzi C, Minoretti P. Comparative efficacy of skin-lightening formulations in suppressing ultraviolet B (UVB)-induced arachidonic acid, alpha-melanocyte-stimulating hormone (α-MSH), and melanin expression: an in vitro keratinocyte-melanocyte co-culture study. *Cureus*. 2025;17(2):e78908. DOI: [10.7759/cureus.78908](https://doi.org/10.7759/cureus.78908)

ДИНАМІКА ВІДНОВЛЕННЯ ШКІРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ З ТА БЕЗ ВИКОРИСТАННЯ ГІДРОХІНОНУ

Сулим Г. А.

Резюме. Ультрафіолетове (УФ) випромінювання є природним стимулятором меланогенезу і ключовим етіологічним фактором розвитку гіперпигментації шкіри. Вплив УФ-променів викликає зміни в мікрооточенні тканин, що, в свою чергу, сприяє меланогенезу. Водночас УФ-випромінювання використовується як терапевтичний засіб при певних захворюваннях шкіри, серед побічних ефектів яких є пігментні порушення. Серед фармакологічних засобів для корекції гіперпигментації широко застосовують гідрохінон – інгібітор тирозинази, що бере участь у синтезі меланіну.

Мета дослідження: дослідити та порівняти реакцію шкіри на УФ-випромінювання в умовах вільної реадптації та під впливом депігментуючого засобу на основі гідрохінону.

Об'єкт і методи. Піддослідним щурам з темно-сірим пігментованим хутром робили депіляцію в міжлопатковій ділянці та піддавали суберитемному опроміненню УФ-випромінюванням (пікова довжина хвилі 311 нм) 15 разів протягом 30 днів. Згодом тварин розділили на дві групи: групу вільної реадптації та групу, яку обробляли депігментуючим засобом на основі гідрохінону. Зразки шкіри з обробленої ділянки відбирали шляхом біопсії панч-ножем на 31-й, 45-й, 61-й та 121-й день експерименту. Контрольні біоптати шкіри були отримані від інтактних тварин. Структурні зміни в епідермісі досліджували за допомогою забарвлення гематоксиліном та еозином, а меланосоми візуалізували за допомогою фарбування за Фонтаном-Массоном. Гістологічні зрізи аналізували за допомогою мікроскопа Carl Zeiss Primo Star (Німеччина), оснащеного цифровою камерою Zeiss AxioCam ERc 5s і програмним забезпеченням для обробки зображень ZEN 2 (blue edition). Морфометричні параметри, включаючи товщину епідермісу та відсоток площі, зайнятої меланосомами, вимірювали за допомогою програмного забезпечення ImageJ. Інтегрований показник пігментації – індекс непрозорості (ІН) – розраховували як добуток товщини епідермісу та відсоткової площі, зайнятої меланосомами. Проведено статистичний аналіз.

Результати. У контрольній групі товщина епідермісу становила $32,63 \pm 5,39$ мкм, а меланосоми займали $0,77 \pm 0,24\%$ площі епідермісу, в результаті чого ІН становив 0,251 одиниць (прийнято за 100%). На 31-й день обидві експериментальні групи мали однаковий рівень ультрафіолетового опромінення. Товщина епідермісу збільшилася до $54,89 \pm 10,58$ мкм, покриття меланосом до $1,21 \pm 0,32\%$, що складало 0,664 одиниць ІН або 264,3%. У групі вільної реадптації товщина епідермісу на 45-й, 61-й і 121-й дні становила $40,8 \pm 4,8$ мкм, $49,93 \pm 11,16$ мкм і $45,18 \pm 9,44$ мкм відповідно. Відсоток площі меланосом становив $1,03 \pm 0,16\%$, $0,91 \pm 0,13\%$ і $0,91 \pm 0,25\%$, що становило ІН 0,42 (167,2%), 0,454 (180,8%) і 0,411 одиниць (163,6%) відповідно. У групі, яка отримувала гідрохінон, товщина епідермісу становила $33,05 \pm 4,81$ мкм, $43,68 \pm 13,08$ мкм і $53,49 \pm 5,65$ мкм на 45-й, 61-й і 121-й дні відповідно. Відсоток площі зрізу епідермісу, зайнятого меланосомами становив $0,92 \pm 0,27\%$, $0,79 \pm 0,2\%$ та $0,75 \pm 0,2\%$, що відповідало ІН 0,304 (121,0%), 0,345 (137,3%) та 0,401 одиниць (159,7%).

Висновки. УФ-опромінення призводило до значного збільшення товщини епідермісу та щільності меланосом в епідермісі на 31-й день з подальшим поступовим зменшенням з часом, що відрізнялося між групами. ІН залишався значно підвищеним в обох експериментальних групах в усіх часових точках. У той час як щільність меланосом не мала статистично значущих відмінностей між групами, ІН на 45-й і 61-й дні був значно нижчим у групі, яка отримувала гідрохінон, що вказує на його помірний вплив на пігментацію шкіри в умовах УФ-індукованого меланогенезу.

Ключові слова: експеримент, гістологія, щури, шкіра, меланін, in-vivo, меланоцити, рецептори.

DYNAMICS OF RAT SKIN RECOVERY AFTER ULTRAVIOLET IRRADIATION WITH AND WITHOUT THE USE OF HYDROQUINONE

Sulym H. A.

Abstract. Ultraviolet radiation is a natural stimulator of melanogenesis and the main etiologic factor of hyperpigmented skin diseases. Under the influence of ultraviolet rays, changes in the tissue microenvironment occur, which eventually stimulates melanogenesis. At the same time, ultraviolet light is used as a therapeutic agent for some other skin diseases, among the side effects of which is the occurrence of pigmentary disorders. Among the pharmacological methods of hyperpigmented diseases correction, hydroquinone is used – an inhibitor of tyrosinase, an enzyme of melanin synthesis.

The aim: to investigate and compare the features of the skin response to ultraviolet radiation during the free readaptation and under the influence of a hydroquinone-based drug.

Object and methods. Experimental rats with dark gray fur were shaved in the interscapular area and exposed to UV irradiation (peak at 311 nm) at a suberythemalous dose, 15 times in 30 days. Subsequently, the animals were divided into two groups: a group of free readaptation and a group with depigmentation using a hydroquinone-based preparation. The skin from the experimental area was sampled by punch biopsy on days 31, 45, 61, and 121 of the experiment. Also, skin biopsies of the corresponding area were taken from animals of the control group. Structural

changes in the epidermis were examined with hematoxylin and eosin staining, and melanosomes were visualized using the Fontan-Mason staining method. The preparations were examined using a Carl Zeiss Primo Star microscope (Germany) equipped with a Zeiss AxioCam ERc 5s digital camera (Germany) and ZEN 2 (blue edition) image capture software (Germany). The morphometric determination of the epidermal thickness, % of the epidermal area occupied by melanosomes was performed using the freely distributed ImageJ software, and then the synthetic index of "opacity index" was mathematically determined – the product of the average epidermal thickness by % of the area occupied by melanosomes. Statistical analysis was performed.

Results. The studied parameters in the control group were as follows: epidermal thickness $32,63 \pm 5,39$ mkm. The square of the epidermis section occupied by MS was $0,77 \pm 0,24$. Thus, the opacity index for the epidermis of the control group was 0,251 units. This value was also taken as 100%. On day 31, the experimental animals of both groups received the same UV exposure. The thickness of the epidermis reached $54,89 \pm 10,58$ mkm, the % of the epidermal area occupied by melanosomes was $1,21 \pm 0,32$ %, so the opacity index = $54,89 \times 1,21\% = 0,664$ units, or 264,3%. For the group of free readaptation, the thickness of the epidermis on the 45th, 61st and 121st days of the experiment was $40,8 \pm 4,8$ mkm, $49,93 \pm 11,16$ mkm, $45,18 \pm 9,44$ mkm, respectively. % of MS area reached $1,03 \pm 0,16$ %, $0,91 \pm 0,13$ %, $0,91 \pm 0,25$ % and opacity index, respectively, 0,42 units, or 167,2%, 0,454 units, or 180,8%, 0,411 units, or 163,6%. For the hydroquinone depigmentation group, the thickness of the epidermis on the 45th, 61st and 121st days of the experiment reached $33,05 \pm 4,81$ mkm, $43,68 \pm 13,08$ mkm, $53,49 \pm 5,65$ mkm, respectively. The % of MS area was $0,92 \pm 0,27$ %, $0,79 \pm 0,2$ %, $0,75 \pm 0,2$ % and the opacity index was 0,304 units, or 121,0%, 0,345 units, or 137,3% and 0,401 units, or 159,7%, respectively.

Conclusions. UV irradiation leads to a reliable increase in epidermal thickness, melanosome density in the epidermis on day 31 and then gradually decreases at different rates. The opacity index in both groups was markedly increased during all stages of observation. The density of MS has no significant differences between the experimental groups, while the opacity index on days 45 and 61 of the experiment was reliably lower in the hydroquinone depigmentation group.

Key words: experiment, histology, rats, skin, melanin, in-vivo, melanocytes, receptors.

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

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

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Sulym Hryhori Anatoliiovych / Сулим Григорій Анатолійович

Sumy State University, Educational and Scientific Medical Institute / Сумський державний університет, На-
вчально-науковий медичний інститут

Ukraine, 40000, Sumy, 31 Sanatorna str. / Адреса: Україна, 40000, м. Суми, вул. Санаторна 31

Tel.: +380956158558 / Тел.: +380956158558

E-mail: g.sulim@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 статистичний аналіз, D – на-
писання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 26.04.2025 / Стаття надійшла 26.04.2025 року

Accepted 14.08.2025 / Стаття прийнята до друку 14.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-237-249

UDC 618.3:618.36-007.1:577.15:612.015.3

Siusiuka V. H., Kyrychenko M. M.

ASSESSMENT OF BIOCHEMICAL MARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN WOMEN WITH HYPERTENSIVE DISORDERS OF PREGNANCY

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (Zaporizhzhia, Ukraine)

kirichenkomihail93@gmail.com

Hypertensive disorders of pregnancy (HDP) are major contributors to maternal morbidity and adverse perinatal outcomes and are linked to oxidative stress (OS). Evaluating OS biomarkers in HDP may refine pathophysiologic understanding and risk assessment. The aim of the study – to evaluate biochemical markers of OS in women with HDP. Prospective controlled study of 65 third-trimester women: HDP group (n=35; gestational hypertension or moderate-to-severe preeclampsia) and controls (n=30). In plasma, protein oxidative modification was measured: aliphatic aldehyde-protein hydrazones (AFG) and carbonyl-protein hydrazones (CFG). Antioxidant enzymes were assessed: superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR). Data are median [Q1-Q3]. Shapiro-Wilk, Mann-Whitney U (between-group), and Wilcoxon signed-rank (paired) tests were used; significance $p < 0.05$. In the HDP group, AFG increased from 4.28 to 6.86 ($p < 0.05$) and CFG from 3.60 to 4.76 ($p < 0.05$) after stimulation. In controls, AFG rose from 2.93 to 4.14 ($p < 0.05$), whereas CFG changed from 2.98 to 3.26 ($p > 0.05$). Between-group differences in AFG and CFG were significant before and after stimulation ($p < 0.05$). Antioxidant enzymes were reduced in HDP: SOD 7.89 [6.17-9.09] vs 13.78 [10.99-16.52] U/mg protein/min ($p < 0.05$); GR 6.70 [6.30-6.95] vs 18.20 [17.03-18.80] $\mu\text{mol/g}$