

УДК 615.849:616.5

НАТАЛІЯ ЄВГЕНІВНА УЗЛЕНКОВА, НАТАЛІЯ ГРИГОРІВНА СКОРОБОГАТОВА,  
АЛЕВТИНА ІГОРІВНА КРИВКО, ОЛЕНА ЛЕОНІДІВНА МАСЛЕННІКОВА,  
ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА ЛЕОНОВА

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРИХ РАДІАЦІЙНИХ УРАЖЕНЬ ШКІРИ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

**Мета роботи.** Розробити експериментальну модель гострих радіаційних уражень шкіри у щурів при різних режимах впливу рентгенівського випромінювання для створення на її основі робочих протоколів терапевтичного використання мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку (МСК КМ).

**Матеріали і методи.** Досліди проводили на 57 статевозрілих білих нелінійних щурах-самках масою тіла 160–180 г, яких утримували за стандартними умовами на звичайному раціоні віварію. Локальне опромінення стегна щурів у дозах 35 і 50 Гр здійснювали на експериментальній рентгенівській установці Faxitron MultiRad 225 за обраними технічними умовами у трьох режимах (без фільтрів, фільтр 0,5 мм Al, фільтр 0,3 мм Cu). Ступінь тяжкості радіаційних уражень шкіри оцінювали за спеціально розробленою скоринг-шкалою при динамічних спостереженнях протягом 180 діб після опромінення.

**Результати.** В експерименті проведено моделювання гострих радіаційних уражень шкіри у щурів при локальному опроміненні в дозі 35 і 50 Гр у залежності від різної проникної здатності рентгенівського випромінювання. Установлено, що локальне опромінення в дозі 50 Гр із використанням фільтра Cu товщиною 0,3 мм є оптимальним режимом впливу рентгенівського випромінювання для виникнення гострих реакцій і хронічних виразкових процесів у шкірі щурів.

**Висновки.** Розроблена експериментальна модель гострих радіаційних уражень шкіри у щурів може бути використана для створення і вдосконалення робочих протоколів МСК КМ терапії.

**Ключові слова:** експериментальна модель, гострі радіаційні ураження шкіри, рентгенівське випромінювання.

Гострі радіаційні ураження шкіри, як найбільш поширений тип радіаційних уражень, виникають при радіаційних аваріях та інцидентах, а також як ускладнення радіотерапії в онкологічних хворих [12]. Ступінь радіаційного ураження шкіри залежить від дози опромінення і частини опроміненої поверхні тіла. Клінічними проявами гострого ураження шкіри є реакції сухої і вологої десквамації (променеві епітеліїти) як результат втрати у базальному шарі кератиноцитів і стовбурових клітин волосяних фолікулів [10]. При високих дозах опромінення це супроводжується повторними хвилями запалення у місці опромінювання, що в подальшому призводить до некротичних ран і хронічних незагоєваних виразок [1]. Консервативні методи лікування тяжких радіаційних уражень шкіри, особливо хронічних незагоєваних виразок, малоефективні та вимагають хірургічного втручання з використанням шкірних ауто трансплантатів. Однак через постійний запальний стан безпосередньо у місці ураження і системні реакції трансплантати часто призводять до виникнення ускладнень [11].

В останні роки одним із найбільш перспективних і багатообіцяючих методів лікування гострих радіаційних травм шкіри вважається клітинна терапія з використанням мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин, виділених із кісткового мозку (МСК КМ) [2–9]. Клітинна терапія МСК КМ сама по собі або в поєднанні з іншими видами лікування, потребує проведення доклінічних досліджень для розробки і вдосконалення безпечних та ефективних протоколів використання МСК КМ у клінічній практиці.

Метою даної роботи стала розробка експериментальної моделі гострих радіаційних уражень шкіри у щурів при різних режимах рентгенівського випромінювання для створення на її основі робочих протоколів терапевтичного використання МСК КМ.

### МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди проводили на 57 статевозрілих білих нелінійних щурах-самках масою тіла 160–180 г, яких утримували за стандартними умовами на звичайному раціоні віварію.

Проведення експериментів із тваринами виконували під контролем Комітету з біоетики ДУ «ІМР НАМН України» відповідно до внутрішнього

протоколу, створеного на міжнародних принципах Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1998) та норм біомедичної етики, згідно із Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006).

Експериментальне опромінення тварин здійснювали на рентгенівській установці Faxitron MultiRad 225 (виробник Faxitron Bioptics LLC, США), яка є спеціально розробленою для безпечного опромінення малих лабораторних тварин (миші, щури) та біологічних зразків у лабораторних умовах. Рентгенівський прилад у даній установці складається із металокерамічної рентгенівської трубки з фіксованим анодом і вихідним вікном випромінювання від 0,8 до 1,2 мм берилію. Технічні параметри даної установки передбачають точність регулювання напруги пучка на рентгенівській трубці від 5 до 225 кВ ( $\pm 0,1$  кВ) та сили току від 0,1 до 45 мА ( $\pm 0,01$  мА) з автоматичним вибором фільтра (0,5 і 2,0 мм Al або (0,1 і 0,3 мм) Cu і самостійним водяним охолодженням. В установку вбудовані програмований дозиметр, моторизована полиця для вертикального переміщення по висоті і регулювання дистанції від випромінювача у діапазоні від 15 до 63 см, а також система колімації, яка дозволяє змінювати параметри пучка та розмір поля випромінювання з фокусуванням пучка у центрі поля випромінювання.

При розробці експериментальної моделі гострого радіаційного ураження шкіри локальне опромінення стегна щурів здійснювали при напрузі на рентгенівській трубці 200 кВ, силі току 9,5 мА, дистанція «джерело – об'єкт» дорівнювала 51 см. Під час опромінення тварин фіксували у спеціальній плексигласовій клітці розміром (16 × 8) см та висотою 6,5 см. Рентгенівське випромінювання було колімоване таким чином, що розміри поля опромінення склали

(2,5 × 5,5) см, доза опромінення була 35 і 50 Гр (потужність дози 7,2 Гр/хв). Локальне опромінення здійснювали за різними варіантами: 1 — без фільтрів; 2 — з використанням фільтра Al товщиною 0,5 мм; 3 — з використанням фільтра Cu товщиною 0,3 мм. Щурів було розподілено на 6 піддослідних груп, кожна складалася з 7–9 тварин.

Експертну оцінку клінічного стану опромінених ділянок шкіри щурів проводили на підставі спеціально розробленої в лабораторії методики (затверджено Вченою радою ДУ «ІМР НАМН України», протокол № 1 від 17.01.2012 р.).

Ступінь тяжкості радіаційних уражень шкіри оцінювали за частотою виникнення, латентним періодом, тривалістю перебігу та термінами загоювання клінічних реакцій за скоринг-шкалою (в умовних одиницях): I ступінь — розвиток еритеми (1,0–1,5 УО); II–III ступінь — реакції десквамації (суха десквамація — 2,0–2,5 УО; волога десквамація — 3,0–4,0 УО); IV ступінь — ерозії і гнійно-некротичні ускладнення (4,5–6,0 УО); V ступінь — розвиток ішемічного некрозу дерми (таблиця). За допомогою планіметрії вимірювали площу уражених ділянок шкіри та проводили їх фотографування в динаміці розвитку радіаційного ураження. Спостереження проводили протягом 180 днів після опромінення.

При проведенні статистичної обробки результатів використовували точний метод Фішера, який розраховували за допомогою пакета програм BIostat v 4.03.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами проведених досліджень було встановлено, що локальне рентгенівське опромінення стегна щурів у дозах 35 і 50 Гр спричиняло гостре радіаційне ураження шкіри з розгортанням клінічних реакцій, характеристика яких наведена в таблиці.

Таблиця

Скоринг-шкала оцінки ступеня тяжкості радіаційних уражень шкіри у щурів

Променева реакція шкіри	Ступінь ураження (УО)	Ознаки ураження	
		Стадія розвитку реакцій	Стадія загоювання
Еритема	1	Незначні відмінності від норми, початок почервоніння	Поверхня, що загоїлася
	1,5	Яскраве почервоніння, що чітко відрізняється від норми	Незначне почервоніння, шерсть практично відсутня
Реакція десквамації (суха)	2,0	Яскраве почервоніння, набряк, поява лусочок (сухе лущення)	Глянцева поверхня, сліди кірки, що відпала, шерсть відсутня
	2,5	Виразне лущення; поява жовтих кірок	Почервоніння, глянцева стягнута поверхня, у центрі ураженої ділянки невелика суха кірка
Реакція десквамації (волога)	3,0	Порушення цілісності шкіри, виникнення пухирів, поява ділянок оголеної мокнучої поверхні	
	3,5	Утворення бурих кірок без тріщин і розривів шкіри	
	4,0	Бурі кірки з тріщинами та розривами шкіри	
Ерозії та виразки	4,5	Поява ерозійно змінених ділянок	
	5,0	Формування вкритої виразками поверхні	
	6,0	Виразки та гнійно-некротичні прояви	

Згідно з даними клінічних спостережень, через 12–48 годин після опромінення первинна еритема (гіперемія 1,0 УО) розвивалася в усіх тварин. Потім протягом 7–9 діб після опромінення спостерігався латентний період, коли не визначалося візуальних змін у зоні опромінення. Починаючи з 10-ї доби, виявлялася істинна еритемна реакція (гіперемія 1,5 УО) та у щурів реєструвалися прояви сухого дерматиту (епітеліту), тобто визначалося лущення та поява жовтих кірок (2,0–2,5 УО). Через 14–17 діб сухий епітеліт переходив у вологий епітеліт, порушувалася цілісність шкіри та виникали ділянки оголеної поверхні. На 21–28-му добу після опромінення відбувалася реакція вологої десквамації, яка характеризує гостре радіаційне ураження шкіри (3,0–4,0 УО), вона відзначалася у 100 % тварин.

У більшості випадків (89,7 ± 5,9) %, на опроміненіх ділянках шкіри у ці строки спостерігалися зливні вогнища з серозно-геморагічними виділеннями, які швидко зсихалися в тонкі коричневі кірки. У наступні строки кірки ставали все грубішими, утворювалися темно-коричневі та бурі струпи з тріщинами і розривами шкіри (див. рис. АІ кол. вкл.).

При подальших спостереженнях у щурів, локально опроміненіх у дозі 35 Гр, гостро уражені ерозійно змінені ділянки шкіри (4,0–4,5 УО) спонтанно загоювалися з утворенням атрофічної поверхні. При локальному опроміненні у дозі 50 Гр радіаційне ураження шкіри у більшості випадків набувало хронічного характеру, при цьому перебіг патологічного процесу характеризувався індивідуальними особливостями. На 130–135-ту добу хронічні радіаційні виразки (5,0–6,0 УО) реєструвалися у (16,7 ± 1,9) % щурів, та вони не загоювалися протягом тривалого часу після опромінення (див. рис. АІ кол. вкл.).

Клінічні спостереження за тваринами, які опромінювалися за різних умов рентгенівського випромінювання (без фільтрів або з фільтрами 0,3 мм Сu та 0,5 мм Аl) дозволили встановити особливості

перебігу радіаційних уражень шкіри в залежності від проникної здатності випромінювання (див. рис. АІІ кол. вкл.). Як видно з наведених даних, найбільш тяжкі радіаційні ураження відзначалися у (55,6 ± 4,1) % щурів, опроміненіх у дозі 50 Гр при використанні фільтра Сu товщиною 0,3 мм (найбільш жорстке випромінювання із зазначених вище). У тварин, які опромінювалися у такому режимі, у (22,2 ± 1,7) % випадків формування вкритої виразками поверхні (4,5–5,0 УО) відбувалося вже на 21–24-ту добу та надалі виникали глибокі радіаційні виразки з поширенням уражених ділянок на глибоко розташовані шари прилеглих тканин (див. рис. АІІІ кол. вкл.).

Відмінності у разі інших режимів (використання фільтра Аl товщиною 0,5 мм або без фільтра) стосувалися глибини проникнення випромінювання, радіаційні ураження були більш поверхневими і охоплювали менш глибоко розташовані шари шкіри. На етапі відновлення це сприяло більш повноцінному загоєнню уражених ділянок у скорочені строки.

Таким чином, при розробці експериментальної моделі спеціалізована рентгенівська установка Faxitron MultiRad 225 дозволяла змінювати режим локального опромінення та моделювати гострі радіаційні ураження шкіри різного ступеня тяжкості у тварин у залежності від поставлених задач, від більш поверхневих до глибоких та тяжких ушкоджень шкіри, що зустрічаються у клінічній практиці.

## ВИСНОВКИ

1. Локальне опромінення тварин (щури) на спеціалізованій рентгенівській установці Faxitron MultiRad 225 у дозі 50 Гр із фільтром Сu товщиною 0,3 мм є оптимальним режимом радіаційного впливу, який призводить до виникнення гострих реакцій та хронічних виразкових процесів у шкірі щурів.

2. Розроблена експериментальна модель гострих радіаційних уражень шкіри може бути використана для створення і вдосконалення робочих протоколів МСК КМ терапії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Bray F. N. Acute and chronic cutaneous reactions to ionizing radiation therapy / Bray F. N., Simmons B. J., Wolfson A. H., Nouri K // *Dermatol. Ther.* — 2016. — N 6. — P. 185–206.
2. Eaton E. B. Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine / Eaton E. B. Varney T. R. // *Mil. Med. Res.* — 2015. — N 2. — P. 2–19.
3. Comparative study of regenerative effects of mesenchymal stem cells derived from placental amnion, chorion and umbilical cord on dermal wounds / J. Ertl, M. Pichlsberger, A. Tuca [et al.] // *Placenta.* — 2018. — Vol. 65. — P. 37–46.
4. Wound healing after radiation therapy: review of the literature / F. Haubner, E. Ohmann, F. Pohl et al. // *Radiat. Oncol.* — 2012. — N 7. — P. 162–189.
5. Hu M. S. Mesenchymal Stromal Cells and Cutaneous Wound Healing: A Comprehensive Review of the Background, Role, and Therapeutic Potential / M. S. Hu, H. P. Lorenz, M. T. Longaker, D. C. Wan // *Stem Cells Int.* — 2018. doi: 10.1155/2018/6901983
6. The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds / J.-W. Kim, J.-H. Lee, Y. S. Lyo [et al.] // *Vet. Dermatol.* — 2013. — N 24. — P. 242–253.
7. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy / J. J. Lataillade, C. Douce, E. Bey [et al.] // *Regen. Med.* — 2007. — N 2. — P. 785–794.
8. Regenerative potential of partially differentiated mesenchymal stromal cells in a mouse model of a full-thickness skin wound / A. Liubaviciute, V. Kaseta, A. Vaitcuvienė [et al.] // *EXCLI J* — 2018. — N 17. — P. 871–888. doi: 10.17179/excli2018-1504
9. Mesenchymal Stromal Cells-Based Therapeutics for Wound Healing / S. Malhotra, M. S. Hu, C. D. Marshall [et al.] // *Stem Cells Int.* — 2016:4157934. doi: 10.1155/2016/4157934
10. Ohyama M. Hair follicle bulge: a fascinating reservoir of epithelial stem cells / M. Ohyama // *J. Dermatol. Sci.* — 2007. — N 46. — P. 81–89.

11. Peter R. U. Diagnosis and treatment of cutaneous radiation injuries / Peter R. U., Panizzon R. G., Seegenschmied M. H. (Eds.) // Radiation Treatment and Radiation Reactions in Dermatology, Springer, Berlin, Heidelberg. — 2015. — P. 185–188.
12. Ryan J. L. Ionizing radiation: the good, the bad, and the ugly / J. L. Ryan // J. Invest. Dermatol. — 2007. — N 132. — P. 985–993.

Стаття надійшла до редакції 06.11.2019.

Н. Е. УЗЛЕНКОВА, Н. Г. СКОРОБОГАТОВА, А. И. КРИВКО,  
Е. Л. МАСЛЕННИКОВА, И. А. ЛЕОНОВА

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТРЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ У КРЫС ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

**Цель работы.** Разработать экспериментальную модель острых радиационных поражений кожи у крыс при различных режимах воздействия рентгеновского излучения для создания на ее основе рабочих протоколов терапевтического использования мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ).

**Материалы и методы.** Опыты проведены на 57 половозрелых белых нелинейных крысах-самках массой тела 160–180 г, содержащихся в стандартных условиях на обычном рационе вивария. Локальное облучение бедра крыс в дозах 35 и 50 Гр проводилось на экспериментальной рентгеновской установке Faxitron MultiRad 225 при выбранных технических условиях в трех режимах (без фильтров, фильтр 0,5 мм Al, фильтр 0,3 мм Cu). Степень тяжести радиационных поражений кожи оценивалась по специально разработанной скоринг-шкале по динамическим наблюдениям в течение 180 дней после облучения.

**Результаты.** В эксперименте проведено моделирование острых радиационных поражений кожи у крыс при локальном облучении в дозе 35 и 50 Гр в зависимости от различной проникающей способности рентгеновского излучения. Установлено, что локальное облучение в дозе 50 Гр с использованием фильтра Cu толщиной 0,3 мм является оптимальным режимом воздействия рентгеновского излучения для возникновения острых реакций и хронических язвенных процессов в коже крыс.

**Выводы.** Разработанная экспериментальная модель острых радиационных поражений кожи у крыс может быть использована для создания и совершенствования рабочих протоколов МСК КМ терапии.

**Ключевые слова:** экспериментальная модель, острые радиационные поражения кожи, рентгеновское излучение.

N. UZLENKOVA, N. SKOROBOGATOVA, A. KRIVKO, E. MASLENNIKOVA, I. LEONOVA

SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

### EXPERIMENTAL MODELING OF ACUTE RADIATION SKIN INJURIES IN RATS AFTER X-RAY RADIATION

**Purpose.** To develop an experimental model of acute radiation skin injuries in rats under various conditions of x-ray exposure to create protocols for the therapeutic use of mesenchymal stromal bone marrow cells (BM MSC) based on it.

**Methods.** The experiments were carried out on 57 white female rats 160–180 g body weight, which were kept under standard conditions on a normal diet of vivarium. Local irradiation of rat thighs at doses of 35 and 50 Gy was performed on X-ray irradiation system Faxitron MultiRad 225 under selected technical conditions (without filters, 0.5 mm Al filter, 0.3 mm Cu filter). The severity of radiation skin injuries was evaluated according to the scoring scale for dynamic observations within 180 days after exposure.

**Results.** The experimental modeling of acute radiation skin injuries in rats under local irradiation at a dose of 35 and 50 Gy depending on the different penetrating powers of x-ray radiation was carried out. It was established that local irradiation at a dose of 50 Gy with filter 0.3 mm Cu is the optimal x-ray radiation exposure regime for the occurrence of acute reactions and chronic ulcerative processes in rat skin.

**Conclusion.** The developed experimental model of acute radiation skin injuries can be used to create and improve protocols for BM MSC therapy.

**Keywords:** experimental model, acute radiation injuries of skin, x-ray radiation.

#### Контактна інформація:

Узленкова Наталія Євгенівна

канд. біол. наук, завідувачка лабораторії протирадіаційних засобів і клітинних технологій ДУ «ІМР НАМН України»

вул. Пушкінська, 82, м. Харків, 61024, Україна

тел.: +38 (057) 725-50-31