

УДК 615.5-003.93:57.043:616.092-19

В.В. Базарный, П.И. Щеколдин
**ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ РОСТА В МЕХАНИЗМАХ
СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАЦИИ КОЖИ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКА**
ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

V.V. Bazarnyi, P.L. Shchekoldin
**THE ROLE OF SOME GROWTH FACTORS
IN THE MECHANISMS OF SKIN REPAIR STIMULATION
UNDER DIFFERENT PARAMETERS OF ULTRASONIC ACTION**
Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. В работе изучалось действие различных режимов ультразвука (УЗ) на заживление кожной раны у крыс. Для оценки репаративного процесса исследовали морфологическую картину и определяли стандартные лабораторные показатели воспалительного процесса. Установлено, что непрерывный режим УЗ воздействия оказывает более заметное стимулирующее влияние на заживление экспериментальной кожной раны, чем импульсный режим. Стимуляция регенерации тканей сопровождалась усилением продукции факторов роста — трансформирующего фактора роста, а позднее — эритропоэтина и фактора роста эндотелия сосудов. Одним из механизмов оптимизации репаративных процессов в коже при ультразвуковой терапии мы считаем усиление продукции ростовых факторов, обеспечивающих ускорение эпителизации и повышающих оксигенацию регенерирующей ткани.

Ключевые слова: кожная рана, ультразвук, ростовые факторы

Abstract. The production of growth factors in skin wounds healing and action different modes of ultrasound (frequency – 50 and 880 kHz) were studied. At different stages of repair was determined the blood levels of transforming growth factor β (TGF β), vascular endothelial growth factor (VEGF) and erythropoietin (EPO). Clinical effect of accelerating the healing of skin wounds, was achieved by continuous ultrasound. This was accompanied with levels of growth factors (TGF β , VEGF) in the blood. We can concluded that effect of ultrasound on wound healing is connect with increased production of growth factors. The important repair mechanism is acceleration tissue oxygenation.

Keywords: skin wound, ultrasound, growth factors

Физические факторы и, в частности — ультразвук (УЗ), традиционно применяют в лечении ряда патологических процессов в коже. Возникающие при его воздействии акустические микропотоки вызывают активацию метаболических реакций, микроциркуляции и стимуляцию неспецифической резистентности [3, 11, 14], с чем связывают терапевтические эффекты и клиническую целесообразность применения УЗ для стимуляции репаративных процессов. Вместе с тем, в последние годы сформировалась концепция о ключевой роли факторов роста в механизмах восстановительных реакций, в том числе — при заживлении кожной раны [4, 10], что имеет как фундаментальное значение в познании механизмов репарации, так и актуально в клинической практике. Этим обусловлена потребность пересмотра представлений о механизмах терапевтических эффектов ультразвука с учетом динамики изменения уровня факторов роста.

Цель данной работы — изучить продукцию некоторых факторов роста при заживлении кожной раны в условиях воздействия различных режимов ультразвука.

В настоящем исследовании изучены такие факторы роста, которые, по мнению многих исследователей, играют ключевую роль в формировании грануляционной ткани, ее васкуляризации и других процессах заживления кожной раны — трансформирующего фактора роста β (ТФР β), фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС) [4, 7, 10], а также эритропоэтина (ЭПО).

Материалы и методы

Исследование проведено на 56 беспородных крысах-самцах в возрасте 3–4 месяцев, массой 120–150 г. с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г.). Моделирование кожной раны (площадь которой составляла 1 см²) осуществляли хирургическим способом на дорсальной поверхности тела крыс с соблюдением правил асептики, как описано ранее [1]. Животных выводили из эксперимента в условиях эфирного наркоза с соблюдением правил гуманного обращения.

В крови крыс определяли содержание факторов роста методом твердофазного гетерогенно-

го ИФА – ТФР β (BCM Diagnostic), ФРЭС (Bender Medsystem) и ЭПО («Вектор-Бест»). Для учета результата реакции использовали планшеточный фотометр Multiscan Ascent 354 (Финляндия).

Для оценки реакции системы крови у животных исследовали клеточный состав селезенки. Мазки-отпечатки окрашивали азури-эозином и затем подсчитывали спленоцитогамму.

Животных подвергали воздействию УЗ с помощью аппарата «УЗТ-1.01ф». Использовали различные режимы генерации УЗ – непрерывный (частота — 880 кГц) и импульсный (частота — 50 Гц, длительность импульса — 4 или 10 мсек). Способ озвучивания — контактный (контактная среда — ланолин и глицерин), методика лабильная. Излучателем УЗТ — 1.03 ф воздействовали на кожу хвоста (интенсивность 0,4–0,7 Вт/кв. см, площадь эффективного воздействия — 1 см², время процедуры — 15 мин), на курс — 7 процедур. В контрольной группе животных такое воздействие не проводилось.

Статистическую обработку результатов выполняли на основе принципов вариационной статистики с использованием статистического программного пакета Statistica 6.0. Различия количественных признаков между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистические гипотезы считали подтвержденными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Регенерация кожи при заживлении кожной раны протекала в соответствии с описанной ранее известной картиной [1, 2]. Она складывается из трех фаз: воспалительная реакция, формирование грануляционной ткани и ремоделирование кожного рубца с восстановлением анатомо-функциональной целостности кожи. Соответственно этим стадиям у животных с кожной раной определяли концентрацию факторов роста (таблица 1).

Фаза воспалительной реакции (1–3 сутки) не сопровождалась изменениями концентрации в крови изучаемых факторов. При снижении активности воспалительного процесса (5 сутки) отмечен подъем уровня ЭПО и TGF β.

Вторая фаза (7–10 сутки), отражающая активный репаративный процесс (эпителизация и начало формирования рубца в коже), характеризовалась повышением уровня ЭПО и ФРЭС, нормализацией концентрации ТФРβ.

Третья фаза, которая отражает завершение регенерации, и в целом — восстановление тканевого гомеостаза, отмечена нормализацией изучаемых параметров. Таким образом, заживление кожной раны сопровождается своеобразными динамическими изменениями уровня факторов роста в крови.

Ранее нами было показано, что оптимизация восстановительных процессов в коже может быть достигнута лечебным воздействием УЗ [2]. В данной работе мы оценили воздействие различных режимов данного фактора.

Таблица 1

Концентрация факторов роста в крови крыс при заживлении кожной раны

Table 1. Growth factors concentration in blood of rats at healing skin wound

Сроки после нанесения кожной раны, сут / Time after drawing skin wound, days	ЭПО, мМЕ/мл / EPO, mME/ml	ФРЭС (пг/мл) / VEGF (pg/ml)	ТФР β (пг/мл) / TFG β(pg/ml)
0	6,0±1,2	14,7±7,5	126,5±20,3
1	10,5±2,7	18,3±6,2	108,8±13,4
3	10,1±2,3	21,7±5,8	170,0±17,8
5	13,2±1,9 *	11,1±5,0	347,6±21,4*
7	11,9±1,8*	28,0±2,6*	120,6±14,8
10	11,5±1,6*	28,2±1,0	122,0±20,1
14	10,2±1,3	17,5±0,5	125,0±31,5

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Note: * $p < 0,05$ in comparison with the control

О скорости и качестве заживления кожной раны при воздействии УЗ судили по времени наступления полной эпителизации и отхождения струпа. Этот параметр составил в контрольной группе 20,2±0,4 сут, существенно не изменялся, хотя и имел тенденцию к снижению при прерывистом воздействии УЗ, но при непрерывном режиме УЗТ заметно сокращался (14,4±0,2 сут; $p < 0,05$).

Таким образом, клинический эффект в виде ускорения заживления кожной раны, был достигнут при непрерывном режиме воздействия УЗ. Это сопровождалось и подъемом уровня ростовых факторов в крови животных на 7 сутки (таблица 2).

Таблица 2

Лабораторные показатели крыс при воздействии различных режимов УЗ + (кожная рана, 7 сутки)

Table 2

Laboratory parameters of rats after ultrasound various modes exposure (skin wound, 7 day)

Режим УЗ воздействия / Mode of ultrasound exposure	ЭПО мМЕ/мл / EPO, mME/ml	ФРЭС пг/мл / VEGF (pg/ml)	ТФР пг/мл / TFG β(pg/ml)	Эритроидные клетки селезенки (%) / Erythroid spleen cells (%)
Непрерывный / Continuous	10,7±0,5	36,9±1,8*	187,3±17,1*	10,8±3,2*
Импульсный (4 мс) / Pulse (4msec)	10,5±1,6	27,5±4,5	143,7±19,6*	7,8±2,5*
Импульсный (10 мс) / Pulse (10 msec)	9,8±1,4	32,0±6,3	110,7±13,3	10,7±2,8*
Контроль / Control	11,9±1,8	28,0±2,6	120,6±14,8	2,4±1,4

Примечание: * $p < 0,05$

Note: * $p < 0,05$ in comparison with the control.

У грызунов селезенка, наряду с костным мозгом, является важным гемопоэтическим органом. Поэтому нами исследован ее цитологический состав, что

позволило выявить умеренную стимуляцию эритропоэза под влиянием УЗ, чему предшествовал подъем концентрации ЭПО.

Таким образом, заживление кожной раны является удобной экспериментальной моделью для изучения механизмов регенерации и разработки новых клинических стратегий оптимизации восстановительных процессов. Это направление экспериментальной медицины имеет длительную историю, но продолжает оставаться актуальным, о чем свидетельствуют публикации последних лет [5, 13]. Ранее было показано, что УЗ является одним из факторов, стимулирующих репаративные процессы, и в частности — заживление кожной раны [12, 15].

Нами проведено сравнительное исследование различных режимов УЗ на регенерацию кожи. В результате проведенных экспериментов установлено, что непрерывный режим УЗ воздействия оказывает более заметное стимулирующее влияние на заживление экспериментальной кожной раны, чем импульсный режим.

Обсуждая механизмы данного эффекта, следует также отметить, что под влиянием непрерывного воздействия УЗ было выражено усиление продукции факторов роста. Полученные данные вполне логично объясняются их регуляторным эффектом на ключевые процессы, лежащие в основе репарации при заживлении кожной раны [7, 9, 10]. Отдельно хотелось

бы остановиться на ЭПО, значение которого, вероятно, состояло в том, что он стимулировал эритропоэз, обеспечивающий повышенную потребность регенерирующей ткани в кислороде. Известны также его свойства активировать и ангиогенез, а введение экзогенного ЭПО усиливает регенерацию поврежденной кожи. Это было показано и в экспериментальных, и в клиническом многоцентровом исследованиях [6, 8].

Заключение

Различные режимы ультразвукового воздействия оказывают неоднозначное влияние на заживление кожной раны. Более выраженный репаративный эффект отмечается при непрерывном действии УЗ (частота 880 кГц). Импульсный режим УЗ оказывает менее заметное ранозаживляющее действие.

Фаза активной репарации при заживлении кожной раны при воздействии ультразвука в непрерывном режиме сопровождается повышением в крови уровня факторов роста, вначале — трансформирующего, а позднее — эритропоэтина и фактора роста эндотелия сосудов. Одним из механизмов оптимизации репаративных процессов в коже при ультразвуковой терапии мы считаем усиление продукции ростовых факторов, обеспечивающих ускорение эпителизации и повышающих оксигенацию регенерирующей ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базарный В.В., Валамина И.Е., Селянина О.Н. и др. Иммуномодуляция рибомунилом репаративных процессов в коже крыс // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. 2007. Т.143. № 6. С. 660 - 2.
2. Базарный В.В., Валамина И.Е., Самойлов Д.С. и др. Механизмы коррекции воспалительных и репаративных процессов в коже ультразвуком // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2008. № 3. С. 29 - 30.
3. Улащик В.С. Теоретические и практические аспекты низкочастотной ультразвуковой терапии // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2010. № 6. С. 3 - 9.
4. Dinh T., Braunagel S., Rosenblum B.I. Growth factors in wound healing: the present and the future? // Clin. Podiatr. Med. Surg. 2015. V. 32. № 1. P. 109 - 19.
5. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation // Sci. Transl. Med. 2014. V. 6. № 265. P. 265.
6. Fatemi M.J., Emami A.H., Ghiasi S. et al. Effects of recombinant human erythropoietin on revascularization of full thickness skin grafts in rat // Iran. Red. Crescent. Med. J. 2014. V. 16. № 5. P. 8867.
7. Finsson K.W., McLean S., Di Guglielmo G.M., Philip A. Dynamics of transforming growth factor beta signaling in wound healing and scarring // Adv. Wound Care (New Rochelle). 2013. V. 2. № 5. P. 195 - 214.
8. Johnson K.E., Wilgus T.A. Vascular endothelial

REFERENCES

1. Bazarnyi V.V., Valamina I.E., Selyanina O.N. et al. Immunomodulation by ribomunyl the reparative processes in the skin of rats. Bull.eksp.biol.and med. 2007. V. 143, No. 6. P. 660-2.
2. Bazarnyi V.V., Valamina I.E., Samoilov D.S. et al. Mechanisms of correction of the inflammatory and reparative processes in the skin by ultrasound. Bull.Ural. med. academic science. 2008. No. 3. P. 29-30.
3. Ulaschik C. S. Theoretical and practical aspects of low-frequency ultrasound therapy. Physiotherapy, balneology and rehabilitation. 2010. No. 6. P. 3 - 9.
4. Dinh T., Braunagel S., Rosenblum B.I. Growth factors in wound healing: the present and the future? Clin. Podiatr. Med. Surg. 2015. V. 32. № 1. pp. 109-19.
5. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation Sci. Transl. Med. 2014. V. 6. № 265. P. 265.
6. Fatemi M.J., Emami A.H., Ghiasi S. et al. Effects of recombinant human erythropoietin on revascularization of full thickness skin grafts in rat. Iran. Red. Crescent. Med. J. 2014. V. 16. № 5. P. 8867.
7. Finsson K.W., McLean S., Di Guglielmo G.M., Philip A. Dynamics of transforming growth factor beta signaling in wound healing and scarring. Adv. Wound Care (New Rochelle). 2013. V. 2. № 5. pp. 195-214.
8. Johnson K.E., Wilgus T.A. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation

- growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair // *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014. V. 3. № 10. P. 647 - 61.
9. Koivisto L., Heino J., Häkkinen L., Larjava H. Integrins in wound healing // *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014. V. 3. № 12. P. 762 - 83.
 10. Günter C.I., Bader A., Dornseifer U. et al. Multi-center study on the regenerative effects of erythropoietin in burn and scalding injuries: study protocol for a randomized controlled trial // *Trials*. 2013. 14: 124.
 11. Noble J.G., Lee V., Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans // *Ultrasound Med. Biol.* 2007. V. 33. № 2. P. 279 - 85.
 12. Nogueira V.C., Coelho N.P., de Barros T.L. Biomodulation effects of LED and therapeutic ultrasound combined with semipermeable dressing in the repair process of cutaneous lesions in rats // *Acta Cir. Bras.* 2014. V. 29. № 9. P. 588 - 95.
 13. Reinke J.M., Sorg H. Wound repair and regeneration // *Eur. Surg. Res.* 2012. V. 49. № 1. P. 35 - 43.
 14. Young S.R., Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis // *Ultrasound Med. Biol.* 1990. V. 16. № 3. P. 261 - 9.
 15. Zhou S., Schmelz A., Seufferlein T. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 52. P. 54463 - 9.
- of cutaneous wound repair. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014. V. 3. No. 10. pp. 647-61.
 9. Koivisto L., Heino J., Häkkinen L., Larjava H. Integrins in wound healing. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2014. V. 3. No. 12. pp. 762-83.
 10. Günter C.I., Bader A., Dornseifer U. et al. Multi-center study on the regenerative effects of erythropoietin in burn and scalding injuries: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2013. 14: 124.
 11. Noble J.G., Lee V., Griffith-Noble F. Therapeutic ultrasound: the effects upon cutaneous blood flow in humans. *Ultrasound Med. Biol.* 2007. V. 33. No. 2. pp. 279-85.
 12. Nogueira V.C., Coelho N.P., de Barros T.L. Biomodulation effects of LED and therapeutic ultrasound combined with semipermeable dressing in the repair process of cutaneous lesions in rats. *Acta Cir. Bras.* 2014. V. 29. No. 9. pp. 588-95.
 13. Reinke J.M., Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur. Surg. Res.* 2012. V. 49. No. 1. pp. 35-43.
 14. Young S.R., Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound Med. Biol.* 1990. V. 16. No. 3. pp. 261-9.
 15. Zhou S., Schmelz A., Seufferlein T. Molecular mechanisms of low intensity pulsed ultrasound in human skin fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. No. 52. pp. 54463-9.

Авторы:

Базарный Владимир Викторович
д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии, главный научный сотрудник отдела общей патологии ЦНИЛ
vlad-bazarny@yandex.ru

Щеколдин Павел Иванович

д.м.н., профессор, профессор кафедры физиотерапии

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет
Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3

Authors:

Bazarnyi Vladimir V.
Professor, PhD
vlad-bazarny@yandex.ru

Shchekoldin Pavel I.

Professor, PhD

Ural State Medical University

Russian Federation 620028, Yekaterinburg, Repin str., 3

Дата поступления – 01.06.2016

Received – 01.06.2016

Образец цитирования:

Базарный В.В., Щеколдин П.И. Значение некоторых факторов роста в механизмах стимуляции репарации кожи при различных режимах воздействия ультразвука. *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2016. №2, с. 36-39, DOI: 10.22138/2500-0918-2016-14-2-36-39

For citation:

Bazarnyi V.V., Shchekoldin P.I. The Role of some Growth Factors in the Mechanisms of Skin Repair Stimulation under Different Parameters of Ultrasonic Action [Znachenie nekotorykh faktorov rosta v mehanizmah stimulyatsii reparatsii kozhi pri razlichnykh rezhimakh vozdeistviya ultrazvuka] *Vestnik ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki – Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki*. 2016, no. 2, pp. 36-39. DOI: 10.22138/2500-0918-2016-14-2-36-39 [In Russ.]