

УДК 616.36-002-07
©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЩЕКИ КРЫС НА СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ И ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 1 β И 6 В ДИНАМИКЕ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ

Т.П. Вавилова^{1}, И.В. Тарасенко¹, А.Е. Медведев^{1,2}, И.Г. Островская¹*

¹Московский государственный медико-стоматологический университет,
Делегатская ул., 20/1, 127473, Москва,; тел. (495) 365-45-97;
эл. почта: TPVavilova@yandex.ru

²Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАМН имени В.Н. Ореховича,
Погодинская ул. 10, 119121 Москва; эл. почта: Alexei.Medvedev@ibmc.msk.ru

Исследовали содержание основного фактора роста фибробластов (оФРФ), интерлейкинов 1 β и 6 (ИЛ-1 β и ИЛ-6) в слизистой оболочке щеки крыс после её хирургической травмы лучом эрбиевого лазера и скальпелем. Показано, что под влиянием лазерного излучения на 2-е сутки происходит резкое увеличение содержания исследованных регуляторов, которое к 7-ым суткам снижается, приближаясь к значениям контрольной группы. Полученные данные, по-видимому, свидетельствуют о синергизме действия исследованных пептидов в раневом дефекте. Изменение времени освобождения ФРФ, ИЛ-1 β и ИЛ-6 в ране, сформированным лазерным лучом по сравнению с раневым процессом, вызванным режущим инструментом, очевидно, может способствовать более быстрому наступлению фазы пролиферации.

Ключевые слова: основной фактор роста фибробластов, интерлейкины, Er:YAG лазер, рана, слизистая оболочка полости рта

ВВЕДЕНИЕ. Восстановление и замещение повреждённых тканей в ране связано с воспалительными, пролиферативными и регенераторными процессами [1]. Процесс начинается с выхода из сосудов молекул фибриногена и образующийся фибрин формирует своеобразную сетку, являющуюся каркасом, по которому фибробласты распределяются в очаге репарации. Размножение фибробластов начинается по периферии зоны воспаления, обеспечивая формирование фибробластического барьера. Хемотаксис, активация и пролиферация фибробластов осуществляются под воздействием факторов роста фибробластов, тромбоцитов, β -трансформирующего фактора, фактора некроза опухоли, интерлейкина-1 β , а также кининов, тромбина и других регуляторных белков и пептидов [2]. Слаженное взаимодействие регуляторных пептидов в зоне раневого дефекта, в конечном итоге, заканчивается формированием репарационного рубца.

Раневой дефект вызывается механическими и физическими факторами. В последнее время в хирургии достаточно широко используется лазерная техника [3, 4]. Наиболее распространёнными лазерами, применяемыми в хирургии мягких тканей полости рта, являются диодный, углекислотный (CO₂) и эрбиевый. Эрбиевый лазер, лучи которого имеют высокий коэффициент поглощения не только в воде, но и в кристаллах гидроксипатита, часто используется для работы как с твёрдыми, так и мягкими тканями [5]. На клеточной культуре фибробластов было показано, что лучи Er:YAG лазера способствуют снижению активности циклооксигеназы-1 - ключевого фермента биосинтеза

* - адресат для переписки

ФАКТОРЫ РОСТА В ХИРУРГИЧЕСКОЙ РАНЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ

простагландинов [6]. Клинические исследования указывают, что на сегодняшний день, данный вид лазеротерапии считается наиболее безопасным и щадящим для тканей полости рта [7]. Однако его воздействие на клетки, а также механизм регуляции процесса репарации *in vivo* изучены недостаточно.

В настоящей работе изучали влияние различных способов хирургического повреждения на содержание основного фактора роста и провоспалительных интерлейкинов 1 β и 6 после повреждения слизистой оболочки щеки крыс в динамике репарации.

МЕТОДИКА. В эксперименте было использовано 36 белых беспородных половозрелых крыс-самцов весом 250-300 г., содержавшихся на стандартном рационе вивария, при свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводили в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных, одобренных комитетом по этике МГМСУ.

Крысам под эфирным наркозом проводили иссечение слизистого лоскута на внутренней стороне щеки. С левой стороны раневая поверхность была сформирована Er:YAG лазером марки “Фотона” с длиной волны 2940 ± 2 нм, мощностью 4 Вт, импульсом 700 мкс в режиме “long”, частотой 20 МГц и временем экспозиции 15 секунд под водным охлаждением. На правой стороне щеки крыс иссечение слизистой проводилось стандартным хирургическим скальпелем. Крыс всех экспериментальных групп декапитировали под эфирным наркозом, с соблюдением правил эвтаназии, согласно принятой в 1973 году Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным на 1, 2, 3, 5 и 7 сутки. В качестве контроля были взяты образцы слизистой оболочки полости рта у крыс ($n=6$), не подвергавшихся хирургической операции. Ткань слизистой оболочки щеки в области дефекта отсепаровывали и гомогенизировали в фарфоровой ступке на льду, в 0,5 М трис-HCl буфере (pH=7,3). Гомогенат центрифугировали в центрифуге “LabSystem” течение 15 минут при 3000 об/мин. В полученной надосадочной жидкости иммуноферментным методом определяли содержание оФРФ (нг/мг ткани) и ИЛ-1 α и ИЛ-6 (пг/мг ткани). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Statistica 7,0”. Значимость различий для количественных переменных между группами оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Наши исследования показали, что в гомогенатах выделенной из раны слизистой оболочки щеки крыс, сформированной излучением Er:YAG лазера, в первые сутки после повреждения содержание оФРФ существенно не отличалось от значений контрольной группы. На 2-е сутки его количество возросло в 4 раза, а на 3-и сутки оно достоверно ($p < 0,05$) снизилось, но оставалось повышенным по отношению к показателям контрольной группы. На 5-е и 7-е сутки количество оФРФ приблизилось к содержанию его в слизистой щеки крыс контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1. Содержание основного фактора роста (нг/мг ткани) в слизистой оболочке щеки крыс в динамике заживления раневого дефекта.

Воздействие	ФРФ	
	Er:YAG лазер	Скальпель
Дни опыта		
1	49,5\pm9,63	124\pm2,07**
2	195\pm30,6**	89,1\pm4,82 *
3	90,1\pm3,43*	89,2\pm4,04*
5	65,1\pm3,96	85,3\pm6,35*
7	55,0\pm2,45	61,5\pm7,80
контроль	51,3\pm4,74	

Примечание. Достоверность различий с контролем: ** - $p < 0,001$; * - $p < 0,05$.

В слизистой оболочке щеки крыс, после нанесения раны режущим инструментом количество оФРФ достоверно увеличивалось в 2,5 раза уже через 24 часа, а затем снижалось на 2-ые сутки, и оставалось в тех же значениях на 3-и и 5-ые сутки эксперимента. К 7-м суткам количество оФРФ приближалось к значениям контрольной группы.

Определение содержания провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 показало, что в интактной слизистой оболочке щеки крыс количество ИЛ-6 в 10 раз превышает содержание ИЛ-1 β . После нанесения раны на слизистую оболочку полости рта крыс лучом Er:YAG лазера в режиме “long” через 1 сутки имела тенденция к снижению количества ИЛ-1 β без изменения содержания ИЛ-6. Через 2-е суток достоверно ($p<0,05$) повышалось количество ИЛ-1 β , а содержание ИЛ-6 существенно не менялось. На 3-и сутки опыта отмечено снижение количества ИЛ-1 β на фоне достоверного повышения ИЛ-6 ($p<0,05$), но на 5-е и 7-е сутки эксперимента количество исследованных интерлейкинов приблизилось к значениям контрольной группы (табл. 2).

Таблица 2. Содержание провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 (пг/мг ткани) в слизистой оболочке щеки крыс в динамике заживления раневого дефекта.

Цитокины	ИЛ-1 β		ИЛ-6	
Воздействие	Er:YAG лазер	Скальпель	Er:YAG лазер	Скальпель
Дни опыта				
1	0,33 \pm 0,06	0,58 \pm 0,13	4,00 \pm 0,25	3,37 \pm 0,82
2	0,95 \pm 0,24*	0,46 \pm 0,12	4,12 \pm 0,20	3,22 \pm 0,46
3	0,38 \pm 0,10	0,50 \pm 0,09*	5,50 \pm 0,10*	3,49 \pm 0,26
5	0,40 \pm 0,09	0,31 \pm 0,07	3,85 \pm 0,34	3,26 \pm 0,45
7	0,42 \pm 0,06	0,37 \pm 0,08	3,93 \pm 0,31	3,07 \pm 0,58*
контроль	0,41 \pm 0,06		4,00 \pm 0,25	

Примечание. Достоверность различий с контролем: * - $p<0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. По нашим данным, заживление раны, нанесённой на слизистую оболочку щеки лазером, происходит быстрее, чем аналогичное заживление раны, нанесённой скальпелем, что совпадает с клиническими исследованиями, проведёнными рядом авторов [8, 9]. С учётом этого, полученные результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что обработка лазером побуждают клетки к повышенному синтезу оФРФ, провоспалительных ИЛ-1 β и ИЛ-6, и способствует более быстрому заживлению раны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Серов В.В., Шехтер А.Б. (1981) Соединительная ткань. Функциональная морфология и патология. М: Медицина, С. 259.
2. Aoki A., Sasaki K.M., Watanabe H., Ishikawa I. (2000) Periodontol., **36**, 59-97.
3. Feist I.S., De Micheli G., Carneiro S.R.S. et al. (2003) Periodontol., **74**, 1368-1375.
4. Лепилин А.В., Булкина Н.В., Богомолова Н.В., Райгородский Ю.М. (2000) Стоматология, **6**, 16-19.
5. Cobb C.M. (2006) Periodontol., **77**, 545-564.
6. Pourzarandian A., Watanabe H., Ruwanpura S.M.P.M. et al. (2005) Periodontal. Res., **40**, 182-186.

ФАКТОРЫ РОСТА В ХИРУРГИЧЕСКОЙ РАНЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ

7. Schoop U., Moritz A., Kluger W. et al. (2002) Oral Laser Appl., 2, 83-93.
8. Дробышев А.Ю., Тарасенко С.В., Гемонов В.В., Тарасенко И.В. (2007) Cathedra, 6, №2, 53-57.
9. Тарасенко С.В., Барер Г.М., Царев В.Н. и др. (2006) Дентал-Ревю, 151-152.

Поступила: 10. 07. 2009.

THE EFFECT OF VARIOUS MODES OF SURGICAL INJURY OF RAT BUCCAL MUCOSA ON THE CONTENT OF BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR AND INTERLEUKINS 1 β AND 6 IN THE DYNAMICS OF REPARATIVE PROCESSES

T.P. Vavilova¹, I.V. Tarasenko¹, A.E. Medvedev^{1,2}, I.G. Ostrovskaya¹

¹Moscow Medical Dental University, Delegatskaya ul. 20/1, Moscow, 127473 Russia;
tel.: (495) 365-45-97; e-mail: TPVavilova@yandex.ru

²Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Pogodinskaya ul. 10, Moscow, 119121 Russia; e-mail: Alexei.Medvedev@ibmc.msk.ru

The content of basic fibroblast growth factor (bFGF) and also interleukins 1 β and 6 (IL-1 β and IL-6) has been investigated in rat buccal mucosa after its surgical injury by an erbium laser (Er:YAG laser) and a scalpel. The laser emission caused a sharp increase in the content of these regulators on the second day after treatment followed by decrease observed on the seventh day. These results may reflect synergistic effect of these peptide regulators in the wound defect. Changes in time-course of bFGF, IL-1 β and IL-6 release in the wound formed by the laser beam compared with the wound induced by the cutting instrument may promote earlier appearance of the proliferation phase.

Key words: basic fibroblast growth factor, interleukins, Er:Yag laser, wound, oral mucosa.