

УДК 616-092.9+612.135: 615.849.11

DOI 10.5281/ZENODO.19654529

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖНОЙ РАНЫ У КРЫС В УСЛОВИЯХ УМЕРЕННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

Борисенко Д. А., Джелдубаева Э. Р., Ярмолук Н. С., Туманянц К. Н.

***ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Российская Федерация
E-mail: delviza@mail.ru***

Работа посвящена оценке влияния умеренного электромагнитного экранирования на показатели микроциркуляции в области острой кожной раны у крыс. Установлено, что у животных, находившихся в условиях электромагнитного экранирования, в период с третьих по 7-е сутки регенерации наблюдается выраженная дезорганизация микроциркуляции, проявляющаяся снижением активности эндотелиальных, нейрогенных и миогенных механизмов регуляции кровотока, увеличением вклада пассивных гемодинамических компонентов и значительным снижением индекса эффективности микроциркуляции. На 14-е сутки отмечалась частичная стабилизация микроциркуляции при сохранении признаков функциональной недостаточности тканевой перфузии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что умеренное электромагнитное экранирование способно существенно изменять регуляцию микроциркуляторного кровотока в зоне повреждения и влиять на течение раневого процесса.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия, острая кожная рана, регенерация.

ВВЕДЕНИЕ

Заживление кожных ран является сложным многоэтапным биологическим процессом, включающим воспалительную фазу, пролиферацию и ремоделирование тканей. Ключевую роль в этих процессах играет состояние микроциркуляции [1]. Нарушение микроциркуляторного кровотока приводит к гипоксии тканей, задержке регенеративных процессов и формированию хронических ран, что представляет серьёзную проблему современной медицины и экспериментальной биологии [2]. Современные методы, такие как лазерная доплеровская флоуметрия, позволяют количественно оценивать изменения кровотока и сосудистого тонуса в зоне повреждения [3].

В последние годы возрастает интерес к изучению влияния физических факторов среды на процессы регенерации тканей. Особое внимание уделяется воздействию электромагнитных полей. Показано, что электромагнитные поля различной интенсивности могут оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на клеточные процессы, включая пролиферацию клеток, ангиогенез и регуляцию микроциркуляции [4, 5].

Одним из перспективных направлений является исследование эффектов электромагнитного экранирования (ЭМЭ), при котором происходит частичное снижение уровня фонового электромагнитного излучения. Считается, что ЭМЭ посредованно способно влиять на процессы тканевой регенерации и регуляцию микроциркуляции за счёт изменения баланса нейрогенных и эндотелий-зависимых регуляторных механизмов сосудистого русла [6, 7]. Однако данные о влиянии умеренного ЭМЭ на микроциркуляцию и регенеративные процессы остаются ограниченными и противоречивыми.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования является оценка влияния умеренного ЭМЭ на показатели микроциркуляции в области острой кожной раны у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа проводилась на 20 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250–300 г. Содержание животных осуществлялось в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014 и действующими нормативными рекомендациями по уходу и содержанию лабораторных животных. При выполнении исследования строго соблюдались положения законодательства Российской Федерации, биоэтические нормы и нормативные документы, включая ГОСТ 31887-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Все манипуляции с участием животных проводились в соответствии с утверждёнными стандартными операционными процедурами и были одобрены локальным комитетом по биоэтике ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (протокол № 5, 2022 г.).

Животные были случайным образом распределены на две группы по 10 особей. Всем крысам моделировали кожную рану путем нанесения продольного разреза длиной 3 см в области холки с формированием шинированного полнослойного кожного дефекта по методике Masson–Meyers и соавт. [8].

Животные первой группы служили биологическим контролем (К) и в течение 14 суток содержались в стандартных условиях вивария. Крысы второй, экспериментальной группы (ЭМЭ), находились в гипомагнитной камере размером 2×3×2 м, изготовленной из двуслойного железа «Динамо». Коэффициент экранирования постоянной компоненты магнитного поля, определённый с использованием феррозондового магнитометра, составил 4,375 для вертикальной составляющей и 20,0 для горизонтальной.

Состояние микроциркуляторного русла и реакции эндотелия микрососудов оценивали с использованием анализатора микроциркуляции крови «ЛАКК-02» и прибора для проведения функциональных проб «ЛАКК-ТЕСТ» (Россия, компания «Лазма») [3]. Обработка данных осуществлялась с применением программного обеспечения LDF 2.20.0.0507WL. Оптоволоконный датчик прибора «ЛАКК-02» фиксировали тканевым пластырем в непосредственной близости к краю раневого дефекта. Регистрацию показателей проводили на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки эксперимента для оценки динамики восстановления микроциркуляции в зоне повреждения.

При анализе данных лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) учитывали неосцилляторные характеристики базального кровотока: показатель перфузии (ПМ, перф. ед.), среднеквадратичное отклонение (СКО, перф. ед.) и коэффициент вариации (КВ, %). Также регистрировали осцилляторные компоненты микроциркуляции, включая амплитуды эндотелиальных (Аэ, перф. ед.), нейrogenных (Ан, перф. ед.), миогенных (Ам, перф. ед.), дыхательных (Ад, перф. ед.) и сердечных (Ас, перф. ед.) колебаний кровотока. Дополнительно рассчитывали интегральный показатель — индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ, усл. ед.) [3]. Для оценки колебательных компонентов кровотока различных частотных диапазонов применяли вейвлет-анализ сигнала ЛДФ [3, 9].

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием программ GraphPad Prism 8 и MS Excel 2010. Проверку нормальности распределения проводили с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку в большинстве случаев распределение показателей отличалось от нормального, межгрупповое сравнение осуществляли с применением непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с последующим апостериорным тестом Данна. Статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования выявили статистически значимые изменения показателей микроциркуляции (МЦ) в группе крыс, содержащейся в условиях умеренного электромагнитного экранирования.

У животных первой группы (К) в разные сутки наблюдения регенерация раны соответствует физиологической модели заживления ран. Так, в 1-е сутки показатель перфузии (ПМ) составил 17,61 (15,83;20,59) перф. ед., показания Аэ, Ан, Ам, Ад, Ас были повышены. Индекс эффективности МЦ (ИЭМ) низкий – 0,72 (0,70;0,87 у.е.). Это соответствует показателям при остром повреждении – расширение артериол, увеличение притока крови, повышение проницаемости капилляров, развития отёка и гиперемии.

На 3-и сутки эксперимента у животных в контрольной группе отмечается развитие ранней пролиферативной фазы. Меньший показатель СКО (0,80 (0,63;0,86 перф.ед) при большем КВ (5,23 (3,83;5,28) %) свидетельствует о более динамичном перераспределении кровотока. Отмечается увеличение ИЭМ более чем в 2 раза по сравнению с первыми сутками наблюдения, что показывает переход к фазе пролиферации.

На 7-е сутки отмечается пик пролиферации, формирование грануляционной ткани. Показатель перфузии 12,58 перф. ед. (11,59;15,92) (снижение на 24 % относительно третьих суток) отражает окончание активного воспаления, начало работы новообразованных капилляров, уменьшение артериовенозного шунтирования. Снижение большинства ритмов (Аэ, Ан, Ам) демонстрирует уменьшение вазомоторной активности.

На 14-е сутки отмечается поздняя пролиферация, начало ремоделирования раны. ПМ увеличился на 16 % относительно седьмых суток, большинство ритмов (Аэ, Ан, Ам, Ас) повышены, но без признаков воспалительной гиперреакции. Это

указывает на стабилизацию сосудистой регуляции, тонкую настройку трофики и метаболизма тканей, тенденцию к нормализации после заживления.

Полученные результаты динамики показателей микроциркуляции соответствуют классическому течению фаз раневого процесса, описанному в экспериментальных и клинических работах по физиологии заживления ран [10].

Таким образом, динамика микроциркуляции у животных в первой группе полностью согласуется с классической моделью раневого процесса.

У животных второй группы, находившихся в условиях умеренного ЭМЭ, на первые сутки регистрации показатели микроциркуляции статистически не отличались от соответствующих показателей у животных в контрольной группе (рис. 1).

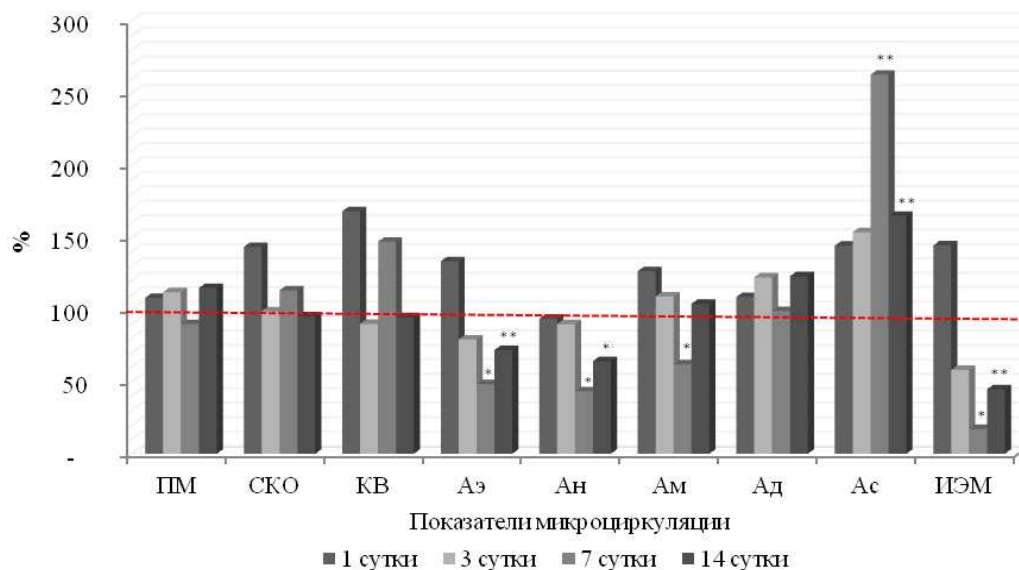


Рис. 1. Изменение показателей микроциркуляции у крыс, содержащихся в условиях умеренного электромагнитного экранирования на 1, 3, 7, 14 сутки регенерации острой раны (относительно показателей в контрольной группе животных, принятых за 100%).

Примечание: показатель перфузии (ПМ), среднее квадратичное отклонение (СКО), коэффициент вариации (КВ), амплитуды эндотелиальных (Аэ), нейрогенных (Ан), миогенных (Ам), дыхательных (Ад) и сердечных (Ас) колебаний, индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ); * – достоверность различий между экспериментальными группами животных по критерию Данна.

На третьи сутки эксперимента у животных группы ЭМЭ отмечена тенденция к повышению ПМ – на 11,97 %. Значения СКО и КВ уменьшились на 1,25 % и 9,94 % соответственно. Аэ и Ан уменьшились на 20,76 % и 10,26 % соответственно, тогда как Ам, Ад и Ас увеличились на 8,95 %, 22,27 % и 53,58 % соответственно. ИЭМ уменьшился на 44,68 %, что отражает снижение функциональной результативности кровотока, несмотря на рост перфузии (рис. 1.). Таким образом, к третьим суткам у

крыс группы ЭМЭ наблюдалось перераспределение регуляторных влияний с ослаблением активных регуляторных механизмов микроциркуляции и нарастанием пассивных гемодинамических компонентов.

На седьмые сутки эксперимента, соответствующих фазе активной пролиферации и началу ремоделирования, ПМ у крыс группы ЭМЭ снизился на 10,10 % по сравнению с контролем. Показатели вариабельности микроциркуляции возросли: СКО на 13,27 %, КВ на 47,02 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, что указывает на выраженную дезорганизацию микроциркуляторного кровотока и неравномерность перфузии тканей. Аэ, Ан, Ам снизились на 51,73 %, 56,73 % и 37,93 % соответственно, тогда как показатель Ас увеличился на 162,83 % по сравнению с контрольной группой, что отражает сохраняющуюся тенденцию к преобладанию пассивных регуляторных гемодинамических механизмов. ИЭМ уменьшился на 82,78 % ($p < 0,01$) относительно контрольных значений, отражая резкое снижение эффективности микроциркуляции (см. рис. 1).

На четырнадцатые сутки эксперимента, соответствующих поздней стадии ремоделирования раны, в группе ЭМЭ отмечалось повышение ПМ на 14,95 % по сравнению с контролем. Показатели вариабельности микроциркуляции не имели значимых отличий от контроля, что указывает на относительную стабилизацию кровотока. Аэ и Ан оставались сниженными на 28,10 % и 35,73 % соответственно, что свидетельствует о неполном восстановлении активных регуляторных механизмов. Показатель Ас превышал контрольные значения на 65,05 %, отражая сохранение значительного вклада системной гемодинамики. ИЭМ оставался ниже контрольных значений на 55,46 % ($p < 0,05$), что указывает на сохраняющуюся функциональную неполноценность микроциркуляции, несмотря на увеличение объемного кровотока (см. рис. 1).

Полученные результаты согласуются с литературными данными. Показано, что снижение интенсивности естественного магнитного поля сопровождается развитием стрессоподобных реакций, нарушением нейрогуморальной регуляции и изменениями функционального состояния сосудистой системы [11, 12]. Авторы подчеркивали, что микроциркуляторное русло является одной из наиболее чувствительных систем-мишеней при изменении магнитной среды. В исследованиях Гурфинкеля и соавт. [13] продемонстрирована связь параметров микроциркуляции кожи, регистрируемых методом лазерной доплеровской флоуметрии, с вариациями геомагнитного поля и показано, что изменения магнитной обстановки приводят к перестройке спектра микроциркуляторных колебаний, прежде всего за счет эндотелиального и нейрогенного диапазонов. Эти данные согласуются с выявленным в настоящем исследовании снижением Аэ и Ан в группе ЭМЭ на 3-е сутки регенерации. Показано, что гипомагнитные условия могут приводить к угнетению NO-зависимых механизмов вазорегуляции и изменению активности эндотелия, что сопровождается снижением эффективности локального кровотока при сохранении или увеличении системной перфузии [14, 15]. Эффекты ослабления магнитного поля наиболее выражены в периоды активной перестройки биологических систем, когда возрастает роль регуляторных механизмов [16], что соответствует выявленным в настоящем исследовании данным о максимальном

угнетении микроциркуляторной активности именно на 7-е сутки, совпадающие с фазой активной пролиферации и ангиогенеза.

Таким образом, у животных группы ЭМЭ, под воздействием умеренного электромагнитного экранирования в период с третьих по седьмые сутки регенерации формируется дисбаланс регуляции микроциркуляции, характеризующийся подавлением эндотелиальных, нейрогенных и миогенных механизмов. Максимальные нарушения микроциркуляции при ЭМЭ выявляются на седьмые сутки и проявляются резким снижением ИЭМ и доминированием пульсового компонента кровотока. К четырнадцатым суткам отмечается частичная стабилизация микроциркуляции, однако эффективность тканевой перфузии остаётся сниженной, что указывает на неполное восстановление микроциркуляторной регуляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования установлено, что условия умеренного электромагнитного экранирования существенно изменяют динамику микроциркуляторных процессов в зоне острой кожной раны у крыс. У животных контрольной группы течение раневого процесса соответствовало классической модели регенерации ран, включающей в себя стадии воспаления, пролиферации и начала ремоделирования, что подтверждается характерными изменениями перфузии, вариабельности кровотока и осцилляторных компонентов микроциркуляции.

Применение умеренного электромагнитного экранирования (ЭМЭ) при острых повреждениях тканей провоцирует возникновение регуляторной дисфункции в системе микроциркуляции и нестабильность кровотока. В частности, об этом свидетельствует повышение коэффициента вариации по сравнению с контролем на 47,02 % ($p < 0,05$) на седьмые сутки эксперимента и снижение ИЭМ на 82,78 % ($p < 0,01$) и на 55,46 % ($p < 0,05$) на седьмые и четырнадцатые сутки эксперимента соответственно. Это позволяет сделать вывод о снижении эффективности перфузии тканей на ключевых этапах заживления раны и общей дезорганизации микроциркуляторного русла, что проявляется в развитии регуляторной недостаточности микроциркуляции, особенно в фазу активной регенерации.

Полученные результаты демонстрируют существенный вклад естественных электромагнитных полей в процессы восстановления микроциркуляторного русла при остром повреждении мягких тканей и расширяют представление о возможных методах их применения в комплексной терапии острых и хронических ран.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

Список литературы

1. Tonnesen M. G. Angiogenesis in wound healing. / Tonnesen M. G., Feng X., Clark R. A. // Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. – 2000. – 5(1). – P. 40–46.
2. Zaitsev P. P. Conceptual foundations of a new approach to increasing the reparative capacity of laparotomy wound tissues under complicated conditions: Dissertation. / Zaitsev P. P. – 2021. – 293 p.

3. Krupatkin A. I. Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation: a guide for physicians. / Krupatkin A. I., Sidorov V. V. – Moscow: Meditsina, 2005. – 254 p.
4. Tepper O. M. Low-frequency electromagnetic fields promote angiogenesis. / Tepper O. M., Callaghan M. J., Chang E. I., et al. // Plastic and Reconstructive Surgery. – 2004. – 114 – P. 940–948.
5. Chuyan E. N. Changes in skin microcirculation in response to exposure to low-intensity millimeter-range electromagnetic radiation. / Chuyan E. N., Tribat N. S., Dzheldubaeva E. R. // Meditsina Truda i Promyshlennaya Ekologiya. – 2020 – 60(9) – P. 605–609.
6. Belyaev I. Y. Non-thermal biological effects of microwaves. / Belyaev I. Y. // Microwave Review. – 2005.
7. Grigoriev Y. G. Electromagnetic safety and biological effects. / Grigoriev Y. G., Stepanov V. S. // Bioelectromagnetics. – 2010.
8. Masson-Meyers D. S. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. / Masson-Meyers D. S., Andrade T. A. M., Caetano G. F., et al. // International Journal of Experimental Pathology. – 2020 – 101(1–2) – P. 21–37.
9. Kozlov V. I. Laser Doppler flowmetry method. / Kozlov V. I., Mach E. S., Litvin F. B., et al. // Manual for physicians. – 2001. – 22 p.
10. Ehrlich H. P. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing. / Ehrlich H. P., Hunt T. K. // Annals of Surgery. – 1968 – 167(3) – P. 324–328.
11. Rebrov V. P. Biological effects of hypomagnetic conditions. / Rebrov V. P., Kaznacheev V. P., Trofimov A. V. // Uspekhi Sovremennoi Biologii. – 1996 – 116(4) – P. 483–496.
12. Lednev A. A. Magnetic fields and living systems: physical and biological aspects. / Lednev A. A. – Moscow: Nauka, 2000. – 256 p.
13. Gurfinkel Y. I. Influence of geomagnetic field variations on human skin microcirculation. / Gurfinkel Y. I., Lobanova E. V., Orlov V. A. // Biophysics. – 2002 – 47(6) – P. 1101–1107.
14. Breus T. K. Temporal associations of life with solar and geomagnetic activity. / Breus T. K., Cornélissen G., Halberg F., Levitin A. E. // Annales Geophysicae. – 2003 – 21 – P. 1009–1024.
15. Belov D. R. Endothelial dysfunction under hypomagnetic conditions. / Belov D. R., Krylov V. V., Fedorov A. A. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2007 – 144(1) – P. 15–18.
16. Binhi V. N. Magnetobiology: Underlying Physical Problems. / Binhi V. N. – San Diego: Academic Press, 2002. – 473 p.

CHANGES IN MICROCIRCULATION PARAMETERS DURING SKIN WOUND HEALING IN RATS UNDER CONDITIONS OF MODERATE ELECTROMAGNETIC SHIELDING

Borysenko D. A., Dzheldubaeva E. R., Yarmolyuk N. S., Tumanyants K. N.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: delviza@mail.ru*

The aim of this study was to identify changes in skin microcirculation parameters in rats in an acute wound model when kept in a chamber with moderate electromagnetic shielding. The shielding coefficient of the constant component of the magnetic field, measured using a ferromagnetic probe magnetometer, was 4.375 for the vertical component and 20.0 for the horizontal component. Microcirculation was evaluated using laser Doppler flowmetry (LDF) on days 1, 3, 7, and 14 after wound formation.

In the control group, the dynamics of microcirculation corresponded to the classical phases of the wound-healing process: initial hyperemia, followed by a 24 % decrease in perfusion by day 7, and stabilization of blood flow by day 14.

The use of moderate electromagnetic shielding (EMS) in acute tissue damage provokes regulatory dysfunction in the microcirculation system and blood flow instability. In particular, this is evidenced by an increase in the coefficient of variation compared to the control by 47.02% ($p < 0.05$) on the seventh day of the experiment and a decrease in IEM by 82.78% ($p < 0.01$) and by 55.46% ($p < 0.05$) on the seventh and fourteenth days of the experiment, respectively. This allows us to conclude that there is a decrease in the efficiency of tissue perfusion at key stages of wound healing and general disorganization of the microcirculatory bed, which manifests itself in the development of regulatory insufficiency of microcirculation, especially in the active regeneration phase.

The results obtained demonstrate the significant contribution of natural electromagnetic fields to the processes of microcirculatory bed restoration in acute soft tissue damage and expand the understanding of possible methods of their application in the complex therapy of acute and chronic wounds.

Keywords: electromagnetic shielding, microcirculation, laser Doppler flowmetry, acute skin wound, regeneration.

References

1. Tonnesen M. G., Feng X., Clark R. A. Angiogenesis in wound healing. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, **5**(1), 40 (2000).
2. Zaitsev P. P. *Conceptual foundations of a new approach to increasing the reparative capacity of laparotomy wound tissues under complicated conditions*: Dissertation, 293 (2021).
3. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. *Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation: a guide for physicians*, 254 (Moscow: Meditsina, 2005).
4. Tepper O. M., Callaghan M. J., Chang E. I., et al. Low-frequency electromagnetic fields promote angiogenesis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **114**, 940 (2004).
5. Chuyan E. N., Tribat N. S., Dzheldubaeva E. R. Changes in skin microcirculation in response to exposure to low-intensity millimeter-range electromagnetic radiation, *Meditsina Truda i Promyshlennaya Ekologiya*, **60**(9), 605 (2020).
6. Belyaev I. Y. Non-thermal biological effects of microwaves, *Microwave Review*. (2005).
7. Grigoriev Y. G., Stepanov V. S. Electromagnetic safety and biological effects. *Bioelectromagnetics*. (2010).
8. Masson-Meyers D. S., Andrade T. A. M., Caetano G. F., et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment, *International Journal of Experimental Pathology*, **101**(1–2), 21 (2020).
9. Kozlov V. I., Mach E. S., Litvin F. B., et al. Laser Doppler flowmetry method. *Manual for physicians*, 22 (2001).
10. Ehrlich H. P., Hunt T. K. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing, *Annals of Surgery*, **167**(3), 324 (1968).
11. Rebrov V. P., Kaznacheev V. P., Trofimov A. V. Biological effects of hypomagnetic conditions. *Uspekhi Sovremennoi Biologii*, **116**(4), 483 (1996).
12. Lednev A. A. *Magnetic fields and living systems: physical and biological aspects*, 256 (Moscow: Nauka, 2000).
13. Gurfinkel Y. I., Lobanova E. V., Orlov V. A. Influence of geomagnetic field variations on human skin microcirculation, *Biophysics*, **47**(6), 1101 (2002).
14. Breus T. K., Cornélissen G., Halberg F., Levitin A. E. Temporal associations of life with solar and geomagnetic activity, *Annales Geophysicae*, **21**, 1009 (2003).
15. Belov D. R., Krylov V. V., Fedorov A. A. Endothelial dysfunction under hypomagnetic conditions, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **144**(1), 15 (2007).
16. Binhi V. N. *Magnetobiology: Underlying Physical Problems*, 473 (San Diego: Academic Press, 2002).