

Вміст факторів росту у щурів з експериментальною гнійно-некротичною раною на тлі локального застосування композиції на основі протеолітичних ензимів

О.О. Савчук¹, Н.С. Нікітіна¹, Л.І. Степанова¹, К.В. Маєвський², Н.Г. Ракша¹, Т.І. Галенова¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка;

²Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: galenovatanya@gmail.com

Однією з нагальних проблем сучасної медицини є ефективне лікування інфікованих та асептичних ран. Перспективним є використання ензимних композицій на основі протеїназ, здатних до селективного очищення ран та модуляції процесу регенерації. Метою нашої роботи було дослідження динаміки вмісту основних факторів росту, а саме: тромбоцитарного фактора росту А (PDGF-А), інсуліноподібного фактора росту (IGF), фактора росту фібробластів (FGF), епідермального фактора росту (EGF), фактора, індукованого гіпоксією 1 α (HIF-1 α), трансформуючого фактора росту- β (TGF- β) ендотеліального фактора росту судин (VEGF), фактора росту нервів (NGF), у сироватці крові та гомогенаті шкіри щурів з модельованою гнійно-некротичною раною за умов локального застосування ензимної композиції. В експерименті використовували 50 статевозрілих самців білих нелінійних щурів, яких рівномірно розподілили на дві групи: контрольну та дослідну. Після формування гнійно-некротичного ушкодження шкіри тваринам дослідної групи локально наносили композицію на основі протеїназ, виділених із морського їжака *Sterechinus neumayeri* та морської зірки *Odontaster validus*, тоді як тварини контрольної групи лікування не отримували. Щурів виводили з експерименту на 3, 6, 9 і 14-ту добу та на момент повної епітелізації ($n = 5$). У сироватці крові щурів контрольної групи вже на 3-тю добу спостерігали максимальне зростання вмісту досліджуваних факторів росту, що, ймовірно, є наслідком надмірної запальної реакції та некоординованої гіперсекреції у відповідь на ушкодження. Натомість, у сироватці крові тварин дослідної групи підвищення вмісту ростових факторів фіксували не одразу, а у фазу активної проліферації (6–14-та доба), що може свідчити про фізіологічно зумовлену активацію репаративних процесів. Водночас у гомогенатах шкіри спостерігалось помірніше підвищення концентрації ростових факторів порівняно з контролем, що імовірно вказує на зменшення локального запального навантаження та збалансовану регенераторну відповідь. Таким чином, ми припускаємо, що місцеве застосування композиції на основі протеїназ морських гідробіонтів сприяє модуляції вмісту ключових факторів росту, знижує надмірну локальну відповідь та покращує якість репарації тканин.

Ключові слова: гнійно-некротична рана; фактори росту; ензимотерапія; протеолітичні ферменти; морські гідробіонти; загоєння ран; експериментальна модель.

ВСТУП

Хронічні шкірні рани становлять серйозну проблему громадського здоров'я, що вражає мільйони пацієнтів у всьому світі та суттєво впливає на їхнє фізичне, психологічне і

соціальне благополуччя [1]. За даними метааналізу, у загальній популяції хронічні рани мають поширеність приблизно 2,21 на 1000 осіб [2], а в Європі щорічно понад 185 млн дорослих повідомляють принаймні про одне шкірне захворювання [3]. У

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2025

© Видавець ВД “Академперіодика” НАН України, 2025

дослідженнях, що охоплювали низку європейських країн, включно з Україною, продемонстровано значне зниження якості життя у пацієнтів з хронічними ранами, зокрема гнійно-некротичними, через біль, інфекції та обмеження мобільності [4, 5]. У сукупності ці дані підкреслюють актуальність проблеми для систем охорони здоров'я, необхідність міждисциплінарного підходу до лікування та потребу у впровадженні ефективних методів локальної терапії, зокрема на етапі очищення ран від некротичних тканин.

Разом із класичними підходами такими, як хірургічне очищення та системне застосування антибіотиків, дедалі більше уваги приділяють альтернативним біоорієнтованим стратегіям лікування ран. Одним із перспективних напрямів є ензимна терапія – використання протеолітичних ферментів для м'якого очищення ран від некротичних тканин, зменшення бактеріального навантаження та стимуляції проліферативних процесів [6]. Інтерес становлять ферменти природного походження – зокрема, продукти мікроорганізмів [6, 7], рослин [8, 9] і морських безхребетних [10, 11], які демонструють високу біосумісність, селективність дії та потенціал до масштабованого виробництва.

У цьому контексті особливого значення набуває пошук нових джерел протеїназ із заданими фізико-хімічними властивостями, зокрема стабільністю, активністю в широкому діапазоні рН і температур, а також високою селективністю дії. Морські гідробіонти, адаптовані до екстремальних умов Антарктики, демонструють значний потенціал у цьому напрямі. Як показано в наших попередніх дослідженнях, тканини антарктичних безхребетних – медуз, морських зірок і їжаків – містять протеолітичні ферменти, які проявляють високу біологічну активність та специфічність [12, 13].

У цій роботі розглянуто перспективи застосування ензимної композиції на основі протеолітичних ферментів гідробіонтів Антарктики – морського їжака *Sterechnus*

neumayeri та морської зірки *Odontaster validus* – як засобу локального лікування гнійно-некротичних ран. Оцінку ефективності цієї терапії вирішено здійснювати з використанням молекулярно-біологічних маркерів, зокрема вмісту факторів росту, які відображають динаміку і якість репаративного процесу. Ці біологічно активні молекули є ключовими медіаторами регенерації тканин – вони координують запалення, ангиогенез, проліферацію клітин та ремоделювання позаклітинного матриксу [14, 15]. Моніторинг концентрації факторів росту на системному та локальному рівнях дасть змогу не лише простежити етапність перебігу загоєння, а й об'єктивно оцінити потенційну ефективність запропонованого терапевтичного підходу.

Метою нашого дослідження було оцінити вміст ключових факторів росту в сироватці крові та гомогенаті шкіри у щурів з експериментальноіндукованою гнійно-некротичною раною протягом усього періоду загоєння – від початкової фази ушкодження до повної епітелізації.

МЕТОДИКА

Протеїнази, що увійшли до складу ензимної композиції, були ізольовані з тканин морського їжака *Sterechnus neumayeri* та морської зірки *Odontaster validus* за допомогою іонообмінної хроматографії на носії Q-сефароза ("Sigma-Aldrich", США). Одержані фракції характеризувалися високою протеолітичною активністю, що було підтверджено методом ензим-електрофорезу з використанням колагену, желатину та фібриногену як субстратів. У складі очищених фракцій переважали металозалежні та серинові протеїнази у співвідношенні, характерному для кожного виду: від 67 до 30% у *O. validus* та від 34 до 44% у *S. neumayeri* відповідно.

Дослідження проведено на 50 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів

віком 3-4 мі та масою тіла 200–250 г. Тварини були рівномірно розподілені на контрольну та дослідну групи по 25 особин у кожній. У межах кожної групи шурів виводили з експерименту на 3-, 6-, 9-, 14-ту добу та на момент повної епітелізації (по 5 тварин на кожну часову точку). Перед початком дослідження тварини пройшли 7-денну акліматизацію в умовах карантину, після чого оцінювали їх загальний стан і проводили контрольне зважування. Маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), етичних принципів, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), а також чинного законодавства України й нормативно-правових актів щодо експериментальної роботи з лабораторними тваринами. Проведення дослідження було схвалено Комітетом з біоетики наукових досліджень Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 4 від 30 липня 2024 р.).

Інвазивні маніпуляції виконували під загальним знеболенням: щурам вводили внутрішньоочеревинно ксилазин гідрохлорид (Ксила, “Interchemie”, Нідерланди) у дозі 20 мг/кг. Протягом експерименту тварин утримували в клітках по 5 особин за стандартних умов.

Модель гнійно-некротичної рани формували підшкірним введенням 0,1 мл 10%-го розчину хлориду кальцію (CaCl_2) у паравертебральну ділянку спини [16]. Площа ураження не перевищувала 400 мм². На 4-5-ту добу після індукції некрозу здійснювали хірургічну некротомію струпа, після чого одразу розпочинали місцеве лікування, яке тривало до моменту повної епітелізації рани.

У експерименті застосовували ензимну композицію на основі 0,6%-го карбополу (Carbopol 980, «Lubrizon», Бельгія), до якої додавали очищені фракції протеїназ, ізольованих із тканин *S. neumayeri* та *O. validus*.

Мазь готували таким чином, щоб її загальна протеолітична активність становила 1 казеїнолітичну одиницю на 1 мл гелю. Гель наносили місцево раз на добу. Тварини контрольної групи лікування не отримували. Евтаназію тварин здійснювали на визначені часові точки дислокацією шийного відділу хребта відповідно до етичних норм.

Основними показниками верифікації ранозагоювальної дії ензимної композиції була площа ран (у міліметрах квадратних), яку визначали, прикладаючи до рани прозорий трафарет, в динаміці на 0-, 3-, 6-, 9-, 12-, 18-, 21-, 24-, 27- та 30-ту добу лікування. Спостереження проводили до повного рубцювання рани.

Забір крові здійснювали після евтаназії тварин пункцією серця у стерильних умовах і залишали її при +37°C на 30 хв для природної коагуляції. Після цього проби центрифугували при 2500g протягом 15 хв. Сироватку відбирали у стерильні мікропробірки. Зразки зберігали при –20°C до моменту використання.

Для локального аналізу вмісту факторів росту після евтаназії тварин вирізали ділянку шкіри у формі кільця на відстані 2-3 мм від краю зони ураження. Центральну частину рани, що зазнала некрозу, не використовували. Відібрану тканину промивали в охолоджену фізіологічному розчині, зважували та гомогенізували у співвідношенні 1:10 (маса тканини : об'єм буфера) у 0,05 М тріс-НСl буферному розчині (рН 7,4), що містив 0,13 моль/л NaCl. Гомогенізацію проводили за допомогою автоматичного гомогенізатора FSH-2A («Vevor», Польща) при 13 000 об./хв протягом 2 хв. Отриманий гомогенат центрифугували при 10 000g протягом 15 хв при +4°C. Супернатант відбирали в стерильні мікропробірки та заморожували при –20°C до подальшого аналізу. Усі маніпуляції проводили в умовах охолодження.

Вміст факторів росту, а саме: тромбоцитарного фактора росту А (PDGF-A), інсуліноподібного фактора росту (IGF),

фактора росту фібробластів (FGF), епідермального фактора росту (EGF), фактора, індукованого гіпоксією 1α (HIF- 1α), трансформуючого фактора росту β (TGF- β), ендотеліального фактора росту судин (VEGF), фактора росту нервів (NGF), визначали методом непрямого імуноферментного аналізу (ELISA) за стандартним протоколом. У лунки мікропланшета вносили по 100 мкл зразків – сироватки крові (попередньо розведеної 1:100 у 0,05 М тріс-НСІ буфері з 130 ммоль/л NaCl; рН 7,4) або гомогенату шкіри (розведеного аналогічним буфером до концентрації білка 20 мкг/мл). Після інкубації протягом 18 год при +4°C планшет промивали буфером з 0,05% Tween-20. Для блокування неспецифічного зв'язування до лунок додавали 200 мкл 5%-го розчину знежиреного молока, інкубували при +37°C протягом 1 год. Далі вносили первинні антитіла («Santa Cruz», США) у відповідному розведенні, інкубували 1 год при +37°C, з наступним внесенням вторинних антитіл, кон'югованих з пероксидазою хрому («Sigma-Aldrich», США). Як субстрат застосовували о-фенілендіамін з додаванням H_2O_2 ; реакцію розвивали 7 хв у темряві при кімнатній температурі та зупиняли додаванням 1,5 М H_2SO_4 . Оптичну густину визначали при довжині хвилі 492 нм. Результати виражали в умовних одиницях на 1 мг білка.

Обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism, версія 9.5.1 (GraphPad Software Inc., США). Міжгрупові відмінності на кожному часовому етапі оцінювали за допомогою двобічного критерію t Стюдента. Результати подано у вигляді середнього значення $\pm$ стандартного відхилення ($M \pm SD$). Вважали відмінності статистично значущими при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оцінку площі гнійно-некротичних ран здійснювали через кожні 3 доби, починаючи з

нульової точки – моменту видалення струпа, який припадав на 5-у добу після підшкірного введення індуктора (10%-го розчину CaCl_2). Результати дослідження наведено в табл. 1.

На початковому етапі експерименту (0-ва доба) середня площа гнійно-некротичних ран у тварин обох груп була приблизно однаковою, що підтверджує стандартизованість моделі. Уже на 6-ту добу загоєння у групі тварин, які отримували лікування у формі ензимної композиції, було помітно прискорення – площа рани була на 18–20% нижче від показників контрольної групи. До 9-ї доби ця різниця стала статистично значущою: ранова поверхня у дослідній групі скоротилася майже вдвічі порівняно з контрольною. За наступні 3 доби ця перевага зберігалася, і до 12-ї доби інтенсивність гоєння в дослідній групі перевищила контроль приблизно вдвічі ($P < 0,05$). На 18-ту добу ранова поверхня у тварин дослідної групи майже зникла, досягнувши лише кількох квадратних міліметрів, тоді як у контрольній групі все ще залишалася помітною. Остаточна епітелізація відбулася в середньому на 27-му добу в групі тварин, які отримували лікування ензимною композицією, тоді як у контрольних тварин повне загоєння в середньому спостерігали лише на 30-ту добу.

Таким чином, застосування композиції на основі протеолітичних ферментів з *S. neumayeri* та *O. validus* сприяло прискоренню загоєння ран, що підтверджено достовірним зменшенням площі ранової поверхні на ключових часових точках (див. табл. 1).

Ефективність репаративних процесів при загоєнні гнійно-некротичних уражень значною мірою залежить від рівня експресії специфічних факторів росту – ключових сигнальних молекул, що регулюють проліферацію, міграцію та диференціацію клітин, ангіогенез, ремоделювання матриксу й інші компоненти регенеративної відповіді [14, 15]. У нашому дослідженні ми оцінювали вміст основних факторів росту у сироватці крові та тканинах щурів на тлі локального

Таблиця 1. Площа (мм²) ранової поверхні у щурів з моделлю гнійно-некротичного ураження шкіри (M ± SD, n = 5)

Доба	Контроль	Дослід
0	136,4 ± 5,3	130,2 ± 16,2
3	108,0 ± 6,4	114,4 ± 9,3
6	106,0 ± 7,2	87,0 ± 16,0
9	102,0 ± 6,4	60,4 ± 19,7*
12	49,8 ± 6,9	24,4 ± 6,7*
18	26,6 ± 8,9	5,8 ± 0,1*
21	15,6 ± 8,5	2,0 ± 0,1*
24	3,2 ± 0,1	0,4 ± 0,1*
27	0,2 ± 0,1	Повне загоєння
30	Повне загоєння	-

Примітки: тут і в табл. 2 і 3 *P < 0,05 порівняно з контролем на відповідному часовому інтервалі.

застосування композиції на основі протеїназ, одержаних з гідробіонтів Антарктичного регіону. Зміни вмісту окремих факторів росту розглядаються як маркери динаміки ранозагоєння та дають змогу оцінити біологічну активність застосованого засобу. Узагальнені результати наведено в табл. 2 і 3.

Вміст факторів росту в сироватці крові (див. табл. 2) є відображенням системної відповіді організму на пошкодження. Отримані результати показали, що на 3-тю добу експерименту у щурів контрольної групи переважала активна запальна фаза з ознаками гіпоксії, судинної деструкції та посиленої активації тромбоцитів. Це підтверджується високими концентраціями факторів, пов'язаних із запаленням, гіпоксичною відповіддю та фіброгенезом (PDGF, VEGF, TGF-β, HIF-1α, FGF тощо). Така динаміка може вказувати на неконтрольований перебіг гострої фази ушкодження. Натомість у дослідній групі, яка отримувала місцеву терапію у формі ензимної композиції, вміст цих прозапальних та гіпоксичних маркерів був достовірно нижчим. Такі результати можуть свідчити про зменшення тканинного стресу, швидше очищення рани та ранню активацію репаративного процесу.

Одним із ключових патофізіологічних механізмів ефективного загоєння ран є

своєчасна активація проліферативної фази, в межах якої домінуючу роль відіграють фактори росту, відповідальні за міграцію, проліферацію та диференціацію клітин [17, 18]. У проміжку між 6-ю і 14-ю добою у дослідній групі зростав вміст таких факторів, як IGF, FGF, EGF та VEGF (див. табл. 1), котрі є критичними медіаторами регенеративних процесів. Так, IGF чинить трофічний вплив на фібробласти й епітеліоцити, посилюючи клітинну проліферацію та підсилюючи дію інших факторів росту у мікрооточенні пошкодження [14]. FGF забезпечує стимуляцію ангиогенезу та формування грануляційної тканини завдяки активації ендотеліоцитів і фібробластів. Крім того, він ініціює експресію компонентів позаклітинного матриксу [19, 20]. EGF є критично важливим для процесу епітелізації, оскільки активує міграцію та проліферацію базальних кератиноцитів [14, 19]. Нарешті, VEGF належить до найсильніших стимуляторів неоангиогенезу. Він ініціює проростання нових капілярів у зону пошкодження, що забезпечує адекватну перфузію тканин і транспортування трофічних факторів до ділянки репарації [14, 21]. Скоординована експресія цих молекул у період проліферативної фази ранозагоєвального процесу є визначальною для якості грануляції та швидкості епітелізації.

Таблиця 2. Вміст (ум.од./мг) факторів росту у сироватці крові щурів з експериментальними гнійно-некротичними ураженнями та на тлі місцевого застосування ензимної композиції ($M \pm SD$, $n = 5$)

Показник	3-тя доба		6-та доба		9-та доба		14-та доба		Повне загоєння	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Тромбоцитарний	21,13 ±	13,34 ±	14,12 ±	15,77 ±	14,17 ±	17,13 ±	14,21 ±	17,94 ±	13,47 ±	14,35 ±
фактор росту	2,51	1,76*	3,25	3,66	4,51	2,67	5,08	4,57	1,74	3,63
Інсуліноподібний	13,87 ±	9,79 ±	8,10 ±	12,09 ±	8,20 ±	14,29 ±	8,92 ±	11,68 ±	10,06 ±	9,62 ±
фактор росту	1,53	0,88*	1,72	1,87*	1,86	1,65*	2,21	0,43	2,96	3,98
Фактор росту	12,78 ±	8,09 ±	9,97 ±	12,62 ±	10,43 ±	16,01 ±	11,83 ±	15,83 ±	13,48 ±	11,31 ±
Фібробластів	1,72	0,96*	2,54	2,41	1,42	1,73*	4,37	8,02	3,58	2,47
Епідермальний	13,65 ±	8,66 ±	9,67 ±	12,56 ±	11,59 ±	17,42 ±	11,08 ±	13,95 ±	14,25 ±	9,79 ±
фактор росту	2,14	0,90*	2,09	1,76	1,85	1,56*	2,86	5,71	2,15	0,81
Трансформуючий	12,96 ±	9,22 ±	9,75 ±	11,65 ±	10,25 ±	12,82 ±	8,62 ±	13,28 ±	10,33 ±	11,20 ±
фактор росту β	1,83	0,61*	2,81	2,22	3,24	2,26	1,72	0,87*	2,65	3,65
Ендотеліальний	1,55 ±	0,62 ±	0,65 ±	0,49 ±	0,57 ±	0,81 ±	0,61 ±	0,77 ±	0,51 ±	0,51 ±
фактор росту судин	0,44	0,21*	0,28	0,07	0,29	0,38	0,11	0,24	0,14	0,11
Фактор росту нервів	1,76 ±	0,61 ±	0,68 ±	0,46 ±	0,59 ±	0,87 ±	0,48 ±	0,71 ±	0,59 ±	0,15 ±
Фактор, індукований гіпоксією 1 α	0,38	0,17*	0,25	0,12	0,23	0,35	0,08	0,16	0,12	0,05
	15,85 ±	10,56 ±	11,65 ±	12,18 ±	13,33 ±	12,94 ±	11,93 ±	15,65 ±	12,66 ±	12,35 ±
	1,84	1,51*	3,29	2,25	3,78	1,69	3,41	6,09	3,45	1,68

Таблиця 3. Вміст (ум.од./мг) факторів росту у гомогенаті шкіри щурів з експериментальними гнійно-некротичними ураженнями та на тлі місцевого застосування ензимної композиції ($M \pm SD$, $n = 5$)

Показник	3-тя доба		6-та доба		9-та доба		14-та доба		Повне загоєння	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Тромбоцитарний	53,78 ±	39,60 ±	46,40 ±	30,22 ±	35,08 ±	26,38 ±	29,49 ±	15,80 ±	27,72 ±	16,11 ±
фактор росту	10,81	7,28*	9,56	6,13*	7,50	5,05*	6,32	4,06*	10,84	5,34
Інсуліноподібний	57,86 ±	40,05 ±	47,92 ±	34,10 ±	37,27 ±	26,91 ±	33,78 ±	18,42 ±	24,23 ±	23,29 ±
фактор росту	6,14	5,01*	7,97	6,71*	6,96	5,22*	7,78	5,62*	8,28	4,73
Фактор росту	46,01 ±	31,28 ±	33,65 ±	26,55 ±	31,25 ±	23,51 ±	26,54 ±	13,77 ±	19,41 ±	17,04 ±
Фібробластів	8,28	3,83*	5,91	6,95*	6,79	5,09*	5,98	5,74*	4,51	4,34
Епідермальний	60,43 ±	43,34 ±	47,56 ±	35,44 ±	41,95 ±	31,79 ±	35,45 ±	21,12 ±	26,79 ±	21,98 ±
фактор росту	7,61	4,82*	6,44	6,51*	6,63	5,59*	6,50	4,08*	4,02	4,01
Трансформуючий	41,47 ±	31,92 ±	32,43 ±	25,77 ±	30,00 ±	22,71 ±	25,77 ±	14,13 ±	27,61 ±	22,14 ±
фактор росту β	7,50	5,06*	5,41	3,62*	4,43	3,52*	5,44	3,15*	6,15	3,57
Ендотеліальний	7,87 ±	5,23 ±	7,03 ±	4,47 ±	5,84 ±	5,00 ±	5,26 ±	3,64 ±	5,18 ±	5,96 ±
фактор росту судин	1,40	0,97*	0,88	1,47*	1,30	1,22	1,43	1,25	1,11	1,43
Фактор росту	18,70 ±	10,63 ±	14,49 ±	9,50 ±	10,89 ±	6,08 ±	7,37 ±	4,82 ±	7,65 ±	6,83 ±
нервів	4,70	1,32*	2,94	1,09*	2,11	1,28*	1,35	1,36	3,49	1,10
Фактор, індукований гіпоксією 1 α	41,77 ±	31,73 ±	33,42 ±	27,12 ±	31,83 ±	24,69 ±	28,13 ±	15,08 ±	26,76 ±	16,36
	5,30	4,01*	4,20	±2,49*	3,97	2,32*	3,61	2,79*	3,91	±2,44*

Нами виявлено, що локальний вміст ростових факторів у зоні ураження (див. табл. 3) у тварин дослідної групи був достовірно нижчим порівняно з контролем на більшості часових точках. Зокрема, така різниця фіксувалася вже на 3-ю добу (PDGF, IGF, FGF, EGF, VEGF, NGF, HIF 1 α ; $P < 0,05$) і зберігалася щонайменше до 14-ї. Такі результати, попри здавалося б суперечливий характер, ми можемо пояснити з точки зору інтенсивності репаративного процесу. Так, знижений вміст факторів росту в гомогенатах шкіри – безпосередньому мікрооточенні рани – у дослідній групі, яка отримувала місцеве лікування, можна трактувати як ознаку меншої потреби в інтенсивній прозапальній та проліферативній активності, що виникає на тлі більш контрольованого перебігу процесу репарації.

У контролі, спостерігається тривале збереження високих концентрацій досліджуваних ростових факторів (див. табл. 3), які продукуються на локальному рівні клітинами у відповідь на тканинну гіпоксію, оксидативний стрес та пошкодження позаклітинного матриксу [17, 18]. Таким чином, високі концентрації факторів росту у контрольній групі в зоні безпосереднього uszkodження не обов'язково свідчать про прогресивну регенерацію – натомість, це може бути компенсаторна реакція на тривале uszkodження та затримку переходу між стадіями процесу загоєння рани (від запалення до проліферації та ремоделювання).

Застосування ензимної композиції, навпаки, сприяло більш швидкому завершенню запальної фази, формуванню грануляційної тканини та активному переходу до регенерації uszkodженої тканини (див. табл. 1). Це супроводжувалося зниженням потреби у місцевій продукції факторів росту, що і відобразилося у отриманих результатах (див. табл. 3). У сироватці крові (підвищення вмісту проліферативних цитокінів у дослідній групі було більш вираженим у період проліферативної фази, що підтверджує ініціацію

регенераторних механізмів. Подібна просто-ррово-часова дисоціація між системною та локальною експресією цитокінів уже описувалася в літературі як маркер збалансованого загоєння ран [22].

Також можливо, що місцеве застосування протеолітичних ензимів опосередковано впливало на локальне вивільнення ростових факторів, забезпеченням швидшої елімінації некротичних тканин та прискоренням очищення рани, що знижувало необхідність пролонгованої локальної продукції сигнальних молекул. Це узгоджується з моделлю «ефективної репарації», де тимчасове й координоване зростання вмісту факторів росту змінюється зниженням їх концентрації через завершення проліферативної фази [23].

Таким чином, знижені концентрації факторів росту в гомогенатах шкіри у тварин, які отримували ензимну композицію, свідчать про оптимізацію фазової динаміки загоєння. Це вказує на швидше завершення фаз запалення й проліферації, що, так само сприяє ефективнішому переходу до ремоделювання без надмірної тканинної стимуляції.

ВИСНОВКИ

1. На моделі гнійно-некротичної рани у щурів доведено, що місцеве застосування композиції на основі протеїназ морських гідробіонтів сприяє активізації репаративних процесів, зокрема прискоренню очищення рани, зменшенню вмісту запального компонента, скороченню термінів загоєння та швидшому досягненню повної епітелізації.

2. Локальне застосування ензимної композиції зумовлювало відтерміновану, але більш гармонійну системну відповідь – вміст IGF, VEGF, FGF та EGF підвищувався у фазу проліферації (6–14-та доба), на відміну від контрольної групи, де максимальні значення фіксували вже на 3-тню добу, що може свідчити про надмірну запальну відповідь та неконтрольований перебіг гострої фази uszkodження.

3. Нижчі концентрації ростових факторів у тканинних гомогенатах тварин дослідної групи можуть бути доказом зменшення локального запального навантаження та формування збалансованої регенераторної відповіді, що є ознакою ефективного загоєння без надмірної проліферативної активації.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

**O.O. Savchuk¹, N.S. Nikitina¹, L.I. Stepanova¹,
K.V. Maievskyi², N.G. Raksha¹, T.I. Halenova¹**

LEVELS OF GROWTH FACTORS IN RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED PURULENT-NECROTIC WOUND UNDER LOCAL APPLICATION OF A PROTEOLYTIC ENZYME-BASED COMPOSITION

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv;

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail:galenovatanya@gmail.com

One of the major challenges in modern medicine is the effective treatment of both infected and aseptic wounds. A promising approach involves the use of enzymatic compositions based on proteases, which are capable of selective wound debridement and modulation of the regeneration process. Our study aimed to investigate the dynamics of major growth factors, namely platelet-derived growth factor A (PDGF-A), insulin-like growth factor (IGF), fibroblast growth factor (FGF), epidermal growth factor (EGF), hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), transforming growth factor- β (TGF- β), vascular endothelial growth factor (VEGF), and nerve growth factor (NGF), in blood serum and skin homogenates of rats with experimentally induced purulent-necrotic wounds under conditions of local application of an enzymatic composition. The experiment was performed on 50 adult male outbred white rats, which were evenly divided into two groups: control and experimental. After the induction of a purulent-necrotic skin injury, animals in the experimental group received local treatment with a composition based on proteases isolated from the sea urchin *Sterechinus neumayeri* and the starfish *Odontaster validus*, whereas animals in the control group did not receive treatment. Rats were euthanized on days 3, 6, 9, and 14, as well as at the point of complete epithelialization (n = 5). In the serum of control animals, a maximal increase in the levels of the investigated growth factors was observed as early as day 3, which

was likely the result of an excessive inflammatory response and uncoordinated hypersecretion triggered by tissue injury. In contrast, in the serum of experimental animals, elevations in growth factor levels were detected not immediately, but during the phase of active proliferation (days 6-14), suggesting a physiologically mediated activation of reparative processes. At the same time, in skin homogenates, only a moderate increase in the concentrations of growth factors was recorded compared to controls, which may indicate a reduction of the local inflammatory burden and a more balanced regenerative response. Thus, we propose that local application of a protease-based composition derived from marine hydrobionts contributes to the modulation of key growth factor levels, attenuates excessive local responses, and improves the quality of tissue repair. Key words: purulent-necrotic wound; growth factors; enzyme therapy; proteolytic enzymes; marine hydrobionts; wound healing; experimental model.

REFERENCES

1. Renner R, Erfurt-Berge C. Depression and quality of life in patients with chronic wounds: ways to measure their influence and their effect on daily life. *Chron Wound Care Manag Res.* 2017;4:143-51.
2. Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, Soljak M, Upton Z, Schmidtchen A, Car J, Järbrink K. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Ann Epidemiol.* 2019;29:8-15.
3. Trakatelli M, Richard M, Rouillard A, Paul C, Röcken M, Stratigos AJ. The burden of skin disease in Europe. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2023;37. doi:10.1111/jdv.19390
4. Krupová L, Pokorná A. Quality of life in patients with non-healing wounds, with particular focus on assessment tools – a literature review. *Cent Eur J Nurs Midwif.* 2020;11(2):94-103.
5. Palomar-Albert D, Zamora-Ortiz J, Palomar-Llatas F, Escudero-Martínez M, Naranjo-Cuellar A, Pastor-Orduna MI. Longitudinal observational study on quality of life in patients with chronic wounds using DLQI and EQ-5D. *Medicina.* 2025;61(5):907.
6. Mathioudaki E, Vitsos A, Rallis MC. Proteolytic enzymes and wound debridement: a literature review. *Wounds.* 2024;36(11):357-65.
7. Ananta Y, Fitri SD. The role of proteolytic activity and computational studies on protease efficiency in wound healing. *Dinasti Health Pharm Sci.* 2025;2(2):67-72.
8. Urs AP, Manjuprasanna VN, Rudresha GV, Manjunath Y, Vishwanath BS. Plant latex proteases: natural wound healers. In: *Proteases in Physiology and Pathology.* Vishwanath BS, Takahashi T (eds). Singapore: Springer; 2017. p. 297-323.
9. Venetikiidou M, Lykartsis E, Adamantidi T, Prokopiou V, Ofrydopoulou A, Letsiou S, Tsoupras A. Proteolytic enzyme activities of bromelain, ficin, and papain from fruit byproducts and potential applications in sustainable and functional cosmetics for skincare. *Appl Sci.*

- 2025;15(5):2637.
10. Mekkes JR, Le Poole IC, Das PK, Bos JD, Westerhof W. Efficient debridement of necrotic wounds using proteolytic enzymes derived from Antarctic krill: a doubleblind, placebocontrolled study in a standardized animal wound model. *Wound Repair Regen.* 1998;6(1):50-7.
11. Perera E, RodriguezViera L, MonteroAlejo V, Perdomo-Morales R. Crustacean proteases and their application in debridement. *Trop Life Sci Res.* 2020;31(2):187-209.
12. Raksha N, Udovychenko I, Halenova T, Vovk T, Savchuk O, Ostapchenko L. Purification and biochemical characterization of fibrino(geno)lytic enzymes from tissues of Antarctic hydrobionts. *Ukr Antarct J.* 2020;(1):69-81.
13. Raksha N, Halenova T, Vovk T, Beregova T, Maievska T, et al. Isolation and partial characterization of serine proteases from jellyfish of the Antarctic region. *J Appl Biol Biotechnol.* 2023;11(2):79-86.
14. Chandra P, Faizan M, Porwal M, Sharma H, Sachan N. An overview and review of growth factors in wound healing: emerging trends and innovations. *Curr Diabet Rev.* 2025 (in Press). Advance online publication. doi:10.2174/0115733998332692241202072249.
15. Shi Z, Yao C, Shui Y, Li S, Yan H. Research progress on the mechanism of angiogenesis in wound repair and regeneration. *Front Physiol.* 2023;14:1284981.
16. Aydınöz S, Süleymanoğlu S, Haholu A, Uzun G, Karademir F, Yıldız Ş, Göçmen İ. Hyperbaric oxygen therapy in calcium chloride extravasation injuries: an experimental animal study. *Eur J Gen Med.* 2007;4(4):186-9.
17. Kiwanuka E, Junker J, Eriksson E. Harnessing growth factors to influence wound healing. *Clin Plastic Surg.* 2012;39(2):239-48.
18. Firmansyah Y, Sidharta VM, Wijaya L, Tan ST. Unraveling the significance of growth factors (TGF- β , PDGF, KGF, FGF, Pro Collagen, VEGF) in the dynamic of wound healing. *Asian J Med Health.* 2024;22(3):49-61.
19. Honnegowda TM, Kumar P, Udupa EGP, Kumar S, Kumar U, Rao P. Role of angiogenesis and angiogenic factors in acute and chronic wound healing. *Plast Aesthet Res.* 2015;2:243-9.
20. Smith J, Rai V. Novel factors regulating proliferation, migration, and differentiation of fibroblasts, keratinocytes, and vascular smooth muscle cells during wound healing. *Biomedicines.* 2024;12(9):1939.
21. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, TomicCanic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585-601.
22. Han AA, Currie HN, Loos MS, Vrana JA, Fabyanic EB, Prediger MS, Boyd JW. Spatiotemporal phosphoprotein distribution and associated cytokine response of a traumatic injury. *Cytokine.* 2016;79:12-22.
23. Vermolen FJ, van Baaren EE, Adam JA. A simplified model for growth factor induced healing of wounds. *Math Comput Model.* 2006;44(9):887-98.

*Матеріал надійшов
до редакції 02.09.2025*