흰쥐의 피부화상 후 저강도 레이저 조사가 표피성장인자의 발현에 미치는 영향

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료학전공
이선민, 구현모, 남기원, 김석범
대구대학교 물리치료학과
김진상

The Effects of Low Power Laser for the Expression of Epithelial Growth Factor in the Burned Skin of the Rats

Lee, Sun-Min, P.T. · Koo, Hyun-Mo, P.T., M.S.
Nam, Ki-Won, P.T., M.S. · Kim, Souk-Boum, P.T.
Major in Physical Therapy, Dept. of Rehabilitation Science, Graduate School, Daegu University
Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.
Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

<Abstract>
This study was performed to investigate the effect of low power laser irradiation on epidermal growth factor(EGF) expression in the burned skin of the rats. Burns of about 3cm in diameter were created with 75℃ water on the back of the rats, and the lesion of experimental group were irradiated on days 1, 2, and 3 postwounding. Control leasions were not irradiated.

After burns, low power laser irradiation was applied by using 1000Hz, 830nm GaAlAs(Gallium-aluminum-arsenide) semiconductor diode laser.

The expression of epidermal growth factor evaluated immunohistochemistry on mouse anti-EGF.

The results of this study wereas follows

1. In expression of EGF , the lesion of experimental group made EGF to more induce significantly than control leasions.
2. EGF immunoreactivity in burned skin were increased markedly 3 days after burns, and increased gradually from 1 day to 2 days in burns which is laser irradiation

These data suggest that low power laser have wound healing effect in the burned skin of the rats.

Ⅰ. 서론

화상 후 숙주의 방어 기전은 어느 하나의 단독적인 변화에 의하지 않고 피부 손상에 의한 일차적인 염증반응과 이에 따른 비특이성 숙주 방어 기전인 대식세포의 변화, 중성구 및 림프구 변형, 보체계 변화 등, 화상 후 면역기전의 변화는 매우 복잡하여 어느 하나의 단독변화로 설명하기란 쉽지 않다(Rapaport 등, 1964). 피부 표피의 주된 기능은 건조, 자외선, 역학적, 면역학적인 결과로 인한 손상으로부터 보호하는 역할인데, 화상 후 일차적으로 가장 먼저 나타나는 피부의 손상으로 인하여 이러한 기능들이 제한된다(Marjana 등, 1988). 또한 표피는 케라틴(keratin) 유전자의 발현과 관련된 각질세포(keratinocyte)의 분화에 있어서 중요한 역할을 하는데(Ponec MG 등, 1997; Usak 등, 2001) , 정상 피부에서 각질화 세포의 기저층은 특수화된 기질인 기저층 바닥에 부착되어 있고, 각질화세포는 절반부착반(hemidesmosom)에 의해 부착되어 있다(정문진, 2000)

염증반응과 같은 병리학적 조건들에서 각질세포의 면역학적인 기능이 증진되어 각질세포가 활성화됨으로써 성장인자들과 사이토카인(cytokine)들을 생성하여 기저막의 구성요소들을 형성하게 된다. 성장인자, 사이토카인과 같은 생체내의 환경적인 신호들은 핵전사인자들의 활동을 조절함으로써, 유전자 발현을 조절한다. 이러한 유전자 발현의 조절은 다양하고 광범위한 신호들이 나타나는 피부에서 매우 중요하며, 특히 병적 상태나 창상 치유 과정에서 각질세포의 새로운 유전자 발현을 자극하는데 있어서 중요하다(Nickoloff와 Turka, 1993).

피부의 치유과정을 촉진하는 인자로는 표피성장인자(Epidermal growth factor; EGF), 혈소판 유래 성장인자(Platelet-derived growth factor; PDGF), 형질변환 성장인자(Transforming growth factor; TGF-β), 섬유모세포 성장인자(Fibroblast growth factor; FGF), 인슐린양 성장인자(Insulin-like growth factor; IGF), 혈관내피 성장인자(vascular endothelial growth factor; VEGF) 등이 있다(정문진 , 2000; Yao 등, 1999)

특히 표피성장인자(EGF)는 1962년 Cohen에 의하여 발견되었는데, 분자내에 3개의 disulfide bond를 포함하며 53개의 아미노산 잔기로 이루어진 단일사슬의 폴리펩티드의 구조로 형성되어 있고, 신경세포 성장인자의 분리 정제 과정에서 신생 마우스의 안검 개열 및 절치의 발현을 촉진시키는 생물활성을 가진 인자이기도 하다.

성숙된 표피에서, 표피성장인자 수용체는 표피 기저부에서 주로 존재하고 첫째 상기저층(first suprabasal layer)들에서도 다소 나타난다(Nanney 등, 1990). 표피성장인자가 표피성장인자 수용체의 바같쪽 부착부위에 결합하면, 수용체의 자기인산화(autophosphorylation) 및 티로신에 특이적인 키나제의 활성화를 경유하여 세포내 단백질을 인산화시킴으로써 최종적으로 DNA합성, 세포의 증식 및 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다(Carpenter 등, 1979; Buhrow 등, 1982; Clark 등, 1985; Osada 등, 1994).

화상의 치유를 위한 여러 가지 접근법들이 최근까지 경험적 방법이 알려져 왔으며, 최근에는 화상치료에 관한 기전에 관한 연구와 종합적인 접근이 시도되어 화상의 치유기전을 이해함에 따라 치유 방법에도 많은 변화를 가져오고 있다.

통해 상흔조직이나 손상조직의 치유를 촉진하므로 화상 뿐만 아니라 습진, 대상포진, 부종이 심한 부위, 욕창이나 궤양 치료에도 사용되어진다(박찬의 등, 1996; 송인영 등, 1997; Rochkind 등, 1989; Simunovic 등, 2000; Simoes 등, 2002). 그리고 유광수 등(2001)은 화상 환자 20명을 대상으로 특정전자파를 조사하여 환자의 통증이 감소하고 치료기간의 단축되었음을 보고한 바 있다.

따라서 화상의 치료에 있어서 생물학적으로 객관적인 치유가 검증된 치료방법을 가지고 보다 폭넓은 근거아래 화상의 치유과정을 이해하는 것이 중요하다.

이에 저자들은 물리치료 영역에서 사용되는 저강도 레이저를 피부 화상 유발 부위에 적용한 후, 치유과정에서 표피성장인자의 발현을 면역조직화학법으로 관찰함으로써 레이저가 피부 화상의 회복에 미치는 효과를 검증하함으로써 레이저의 치료 근거를 마련하고자 한다.

Ⅱ. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에는 체중이 200-300 g인 생후 7-8주의 성숙한 흰쥐(웅성 Sprague-Dawley 계)를 이용하였으며, 예비실험을 통하여 실험의 제한점을 보완하고, 허약하거나 피부에 손상을 가진 쥐는 제외시킴으로써 실험결과에 미칠 수 있는 외적 요인들을 최소화하였다. 실험군 및 대조군은 총 6군으로 구분하여 실험을 진행하였는데, 실험군은 화상을 유발한 후 치료용 저강도 레이저를 적용한 군으로 1일 적용군, 2일 적용군, 3일 적용군 등 3개군으로 구분하였고, 대조군은 화상유발후 치료용 레이저를 적용하지 않은 군으로 1일군, 2일군, 3일군으로 나누었으며 모든 군은 각각 2마리로 구성하였다. 실험동물의 관리에 있어서 실험기간 중 물과 먹이는 제한 없이 공급하였고, 사육실의 온도는 21±1℃를, 습도는 최적의 상태인 50±2%를 유지하였으며, 1일 12시간의 광주기와 12시간의 암주기를 적용하여 실험 기간 중 일정한 조건하에서 사육하였다.

2. 실험방법

1) 실험 준비

럼푼(Rompun, 바이엘코리아)과 염산케타민(Ketamine HCl, 유한양행)을 1 : 1 비율로 혼합한 후 흰쥐의 복강내에 주입(0.6㎖)하여 마취를 유도하였다. 마취 여부를 확인한 후 실험동물을 앙와위로 고정시킨 후 흰쥐의 배부를 지름 3cm 크기의 원형으로 삭모하였고, 삭모 부위에 75 ℃의 뜨거운 물을 10초간 적용하여 화상을 유발시켰다. 화상유발 후 및 레이저 조사 후에는 피부 소독을 실시하여 화상 유발 후의 피부를 통한 감염을 예방하였다.

2) 레이저 적용

본 실험에는 저강도 레이저(low-energy laser)의 한 종류인 GaAlAs 반도체 다이오드 레이저(HANIL M.E CO., LTD)를 이용하였다. 레이저 조사시 주파수는 대조군 및 실험군에 동

일하게 주파수 1000 Hz, 파장 830 ㎚로, 1회 치료시간은 10분, 치료횟수는 1일 1회로 설정하였으며, 도자와 화상 조직사이의 거리는 30 ㎝로 유지하여 각각의 실험군에 대하여 레이저 조사를 실시하였다.

3) 조직절편 제작

대조군은 화상을 유발한 후 레이저 조사를 실시하지 않고 즉시 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde, pH 7.2-7.4)를 심장관류시켜 조직 전고정을 실시한 후, 화상부위의 피부조직을 분리하여 두 시간 동안 후고정(4% paraformaldehyde, pH 7.2-7.4)을 실시하였다. 실험군은 레이저 조사 후 대조군과 동일한 실험과정을 통하여 조직 표본을 제작하였다.
후고정을 끝낸 조직은 탈수, 청명, 파라핀 포매의 일반적인 처리 과정을 거친 후, 미세절단기(microtome, BRIGHT 5040)를 이용하여 10㎛ 두께의 조직 절편을 만든 후 슬라이드를 제작하였다.

4) 면역조직화학법
제작된 조직 절편은 다음의 과정을 거쳐 면역조직화학법을 실시하였다. 가) 조직절편은 탈파라핀과 함수의 과정을 거친 후 내재적 과산화효소(endogenous peroxidase)를 제거하기 위하여 0.05%의 H_2O_2가 첨가된 메탄올에 30분간 침수시켰다. 나) 0.01M phosphate buffer(PB)에 처리하고 그 조직에 1차 항체(mouse anti-EGF, 1:50, SIGMA)를 처리하여 24시간 동안 4℃로 냉장보관하였다. 다) 조직을 0.01M PB로 10분씩 3회 수세한 후 다시 2차 항체(goat anti-mouse IgG, 1:25, sigma)를 실온에서 90분간 처리하였다. 라) streptavidine 과 0.03% Triton X-100, 0.2% normal goat serum을 처리하여 실온에서 60분간 ABC(Avidine-Biotin peroxidase Complex)를 처리하였으며 0.01M PB로 10분간 3회 수세하였다. 바) 증류수 200㎖에 소량의 DAB(3′ 5′-diaminobenzidine)를 5분간 완전 용해시켜 여과지를 이용하여 여과된 용액에 조직을 10분간 처리하였고, 이후 0.01M PB에 10분간 3회 수세하고 증류수에 같은 방법으로 수세하였다. 마) cresyl violet acetate와 toluidin blue를 이용하여 대조염색(counterstaining)을 실시한 후 탈수와 청명의 과정을 거친다. 바) 대조염색을 끝낸 조직은 광학현미경적 관찰 및 영구 보존을 위하여 PMM(perment mounting media)을 이용하여 커버글라스로 봉입하였다.

5) 형태학적 및 면역조직화학적 관찰
광학현미경(Olympus Bx 50, Japan)을 통한 조직 영상은 광학현미경에 장착된 CCD 카메라(Toshiba, Japan)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 자료전송을 실시하였으며, 디지털 영상화된 자료는 Image-proplus ver 4.0 for windows(media cybernetics, USA)를 이용하여 촬영 및 영상분석(image analysis)을 시행하여 형태학적 관찰을 실시하였다.

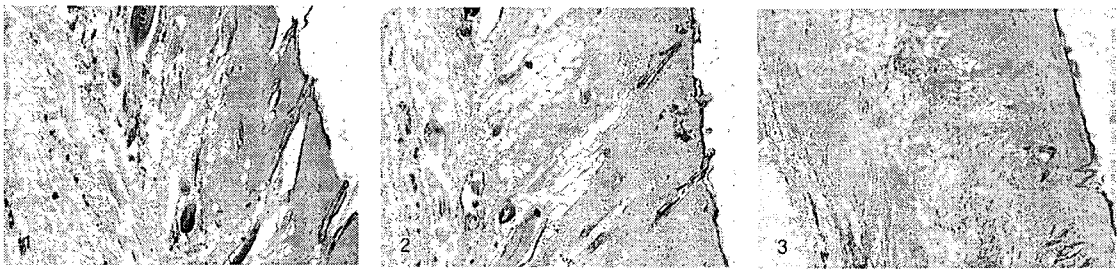
6) 검사결과의 처리
형태학적 소견에서 육안적 소견은 광학현미경하에서 단위 면적당 반응성을 기준으로 매우 높음을 +++, 높음을 ++, 보통을 +, 거의없음을 -, 전혀없음을 —로 나타내었다.

Ⅲ. 실험 결과

피부에 화상을 유발시킨 후 대조군 및 실험군에서 나타난 표피성장인자의 발현정도를 평가함으로써 화상 피부조직에 대한 레이저 조사가 피부조직의 재생과정에 미치는 영향을 알아보고자 실시한 실험 결과는 다음과 같다.

1. 대조군의 표피성장인자 발현

흰쥐의 피부 화상 조직에 단순 드레싱만 실시한 후 1일, 2일, 3일이 경과된 후 화상 피부조직을 분리하여 면역조직화학법을 실시하여 표피성장인자의 발현 정도를 관찰한 결과, 1일군과 2일군에서는 "거의 없음", 3일 군에서는 표피와 진피층의 경계부와 그 일부에서 표피성장인자 항체에 대한 면역반응이 미약하지만, 관찰되어 "보통"의 발현 정도를 보였다(표 1, 그림1, 2, 3).



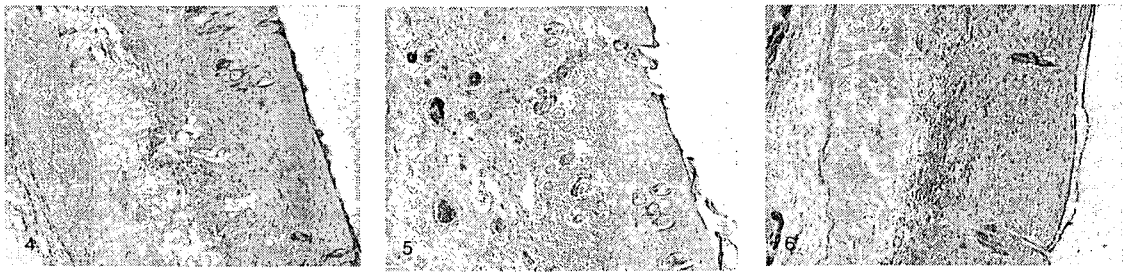
<그림 1> 피부 화상 유발 1일 경과 후 EGF의 발현 양상.
<그림 2> 피부 화상 유발 2일 경과 후 EGF의 발현 양상.
<그림 3> 피부 화상 유발 3일 경과 후 EGF의 발현 양상.

<표 1> 화상 유발후 피부 조직내의 표피성장인자(EGF)의 발현양상의 비교

		1일군	2일군	3일군
EGF의 발현양상	실험군	+	++	+++
	대조군	-	-	+

2. 실험군의 표피성장인자 발현

화상 유발 후 레이저를 각각 1일, 2일, 3일간 조사한 군에서 화상 피부 조직내의 표피성장인자의 발현을 관찰한 결과 실험군은 세 군 모두에서 표피성장인자의 발현이 관찰되었는데, 1일군에서 "보통", 2일군에서 "높음", 그리고 3일군에서 "매우 높음"을 나타냈다(표 1, 그림4, 5, 6).



<그림 4> 피부 화상 유발 후 레이저 1일 적용군에서의 EGF 발현 양상.
<그림 5> 피부 화상 유발 후 레이저 2일 적용군에서의 EGF 발현 양상.
<그림 6> 피부 화상 유발 후 레이저 3일 적용군에서의 EGF 발현 양상.

Ⅳ. 고찰

열상(scaling burn)은 생체에 열이 가해짐으로 인해 발생되며, 그 정도와 깊이는 온도, 접촉된 시간, 상처가 유발된 생체조직의 열 전도도에 의해 결정된다. 열원이 45 ℃ 이하일 때는 조직의 손상이 별로 없으며 45에서 50 ℃ 사이에서는 세포의 부분적 손상이 일어나며 50 ℃ 이상에서는 단백질의 변성이 일어난다(김진복 등, 1995)

본 연구에 사용된 화상 유발방법은 선행연구자들(Ward 등, 1993; Ueda 등, 2001; ;Korompai 등, 2002)이 사용한 방법과 같이 표본 분리를 위한 피부부위를 삭모한 후 75 ℃ 고온수를 처리하여 피부조직에 3도 화상을 유발하였다.

저강도 레이저는 최근 물리치료 영역에서 많이 사용되는 치료기기로써 혈액순환의 증가(Ohshiro 등, 1988), 림프구와 대식세포의 증식(Karu 등, 1991), 신경재생 촉진(Randjelovic 등, 1997, Rockind 등, 2001), 근육재생 촉진(Ben-Don 등, 1999; Shefer 등, 2001; Schwartz 등, 2002), 세포분열 및 상피화 촉진(Rochkind 등, 1989; 송인영 등, 1997), 통증 감소(Simunovic 등, 2000; Brosseau 등, 2000), 상처치유(Simunovic 등, 2000 : Ozdemir et al, 2001: Simoes 등, 2002)의 효과가 있는 것으로 검증되고 있다. 또한 저강도 레이저는 통증이나 손상을 초래하지 않으면서 피부를 투과하는 생자극의 효과가 있으며(Morrone 등, 2000), 평균 0.1℃ 이내의 온도상승을 나타내기 때문에 열 발생은 거의 없는 것으로 알려져 있다(Babapour 등, 1995). 특히 Simoes 등(2002)은 화상으로 인한 피부 손상부위에 1047 nm의 neodymium 레이저를 3일에서 17일간 조사한 결과 피부 병변부위의 크기가 감소하여, 레이저가 피부화상의 치유에 효과적임을 검증하였다. 그러나, 본 연구에서는 Simoes 등(2002)과는 달리 레이저가 화상 이후의 피부재생 과정에서 중심적인 역할을 하는 표피성장인자의 발현 정도를 관찰함으로써 레이저의 치료 효과를 검증하였다.

본 연구에서 화상을 유발한 피부조직에서 표피성장인자의 발현을 관찰하여 그 수용체가 표피(epithelium)의 증식이 이루어지는 연접부에 있으며, 땀관(sweat ducts), 피지선(sebaceous gland), 모낭(hair follicles)과도 관련이 있을 것으로 사료되어지는데, 이는 Wenczak 등(1992)의 연구결과와 일치한다. 정문진(정문진, 2000)의 연구에서 피부 상처 부위에 모낭의

기저부가 완전하게 남아 있으면 파괴된 모낭 잔재물들은 표피의 회복을 돕게 되지만, 모낭 기저부가 완전히 파괴되면 치유 과정 동안 표피의 땀샘과 털은 재생되지 않고 치유 또한 늦어지게 된다고 보고하고 있다. 본 연구에서도 표피성장인자가 발현된 군에서는 모낭의 형태가 유지되고 있음이 관찰되었다. 또한 표피성장인자의 발현이 현저하게 관찰된 표피-진피의 경계부는 표피 기저막(epidermal basement membrane)으로 이루어져 있고, 이 막은 표피세포의 부착을 용이하게 하는 지지대로서의 역할을 하며, 표피의 형성을 조절함으로써 상처치유과정에도 관여하는 것으로 알려져 있다(조윤기, 2000)

표피성장인자가 활성화되면 각질세포의 증식 및 이주(migration)와 더불어 유사분열이 촉진되고(Marjana 등, 1998) 운동촉진물질(motogen)로 작용하는 것이 각질세포에 대한 EGF의 반응 연구에서 확인되었다. 또한 상처를 봉합하는 유사분열촉질물질(mitogen)로서도 활동함으로,이러한 일련의 반응들은 상처치유의 과정에서 중요한 역할을 하게 된다(Repesh와 Oberpriller, 1980).

표피성장인자와 그것의 세포수용체의 신호전달경로는 광범위하게 연구되어왔다.(Ullrich와 Schlessinger 1990; Davis, 1993) 표피성장인자의 생리활성의 발현은 세포막의 표면에 존재하는 표피성장인자 수용체에 결합하는 것으로부터 시작된다(Carpenter 등, 1979; Buhrow 등, 1982). 표피성장인자가 표피성장인자 수용체의 바같쪽 부착부에 결합하면, 수용체의 자기인산화(autophosphorylation) 및 티로신에 특이적인 키나제의 활성화를 경유하여 세포내 단백질을 인산화시킴으로써 최종적으로 DNA합성 및 세포의 증식 및 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다(Carpenter 등, 1979; Buhrow 등, 1982; Clark 등, Osada 등, 1994).

표피성장인자의 수용체에 부착하여 각질세포를 활성화시킬 수 있는 다른 리간드들에는 TGF-α, ampihregulin, HB-EGF, heregulin 등이 알려져 있다(Coffey 등, 1987)

많은 연구자들이 피부 손상의 치유과정에 있어 표피성장인자의 효과를 여러 가지 측면에서 검증한 바 있다. Sanz 등(2000)은 실험용 쥐에서 부분적인 소실이 야기된 피부의 창상부위에 표피성장인자(10㎍/㎖)와 각질세포성장인자(keratinocyte growth factor)(3.3 ng/㎖), 섬유모세포성장인자(basic fibroblast growth factor)(1㎍/㎖)가 함유된 약물을 3일에서 15일동안 각각 10개 그룹에 처리한 결과 대조군에 비해 표피의 두께 증가와 재상피화가 유의하게 증가함을 보여주었다. 특히 표피성장인자와 각질세포성장인자(keratinocyte growth factor)가 섬유모세포성장인자(basic fibroblast growth factor)에 비해 표피의 두께가 더욱 증가한다고 하였다. 또한 Brown 등(1991)은 국소적으로 도포한 표피성장인자가 창상치유에 있어 표피세포나 간질세포의 세포분열과 혈관 형성을 직접적으로 촉진하는 자가분비(autocrine) 기전과 창상 부위 세포에서 다른 성장인자가 분비되도록 하는 간접적인 방법이 창상치유의 기전으로 제시하였다.

Xiao-bing 등(1996)은 궤양이 유발된 피부에 표피성장인자를 처리하여 치료를 실시한 후 8일에서 14일후에 표피성장인자에 의해 활성화되는 표피 줄기세포(epidermal stem cell)를 통한 피부의 재생 기전을 연구하였다. 최근 연구에서는 모낭과 고유의 기저 각질세포층 모두에서 표피의 줄기세포들의 운동 및 증식 가능성이 밝혀지고 있다(정문진, 2000).

또한 Bhora 등(1995)은 사람의 피부 이식 모델에서 FGF, IGF-1, EGF의 유사분열 촉진 효과를 연구하였는데, 이식부위의 가장자리로부터 각질세포의 성장이 이루어짐을 보임으로써, 상처 치유과정의 상피화를 촉진함을 증명하였다. 그리고 박철종 등(1995)은 rhEGF를 전층결손 화상부위에 국소 도포한 군에서 신생진피, 혈관형성, 교원질의 성숙 및 재상피화의 증가가 두드러졌음을 보고하였다. 또한 1996년 Pan 등은 성장인자로 화상으로 인한 상처부위

를 치료한 후 상처부위의 재표피화와 표피두께의 증가가 나타났음을 보고하였으며, DNA와 DNA 세포주기의 S기 비율이 증가한다고 보고하였다. 이는 rhEGF, aFGF, bFGF, bBE 등이 화상으로 인한 상처부위의 상피치유를 가속화시킨다는 것을 제시해주고 있다(Pan 등, 1996).

이를 종합하여 보면 표피성장인자가 화상을 포함한 피부 손상 이후의 치유 과정에서 매우 중요한 역할을 수행하고 있음을 알 수 있는데, 본 연구에서 저강도 레이저가 화상의 치유 과정에서 표피성장인자를 발현시키는 효과가 큰 것을 확인할 수 있었다. 저자들이 화상 유발 후 레이저를 조사하여 표피성장인자의 발현을 관찰한 결과 레이저를 조사한 실험군에서 표피성장인자의 발현이 더욱 현저하였고, 이러한 양상은 손상 후 시간이 증가함에 따라서 발현 정도도 증가하는 것으로 나타났다.

V. 결론

저강도 레이저가 화상 유발 이후의 치유과정에 미치는 효과를 검증하기 위하여 흰쥐의 배부에 화상을 유발한 후 표피성장인자의 발현 정도를 관찰하였다. 실험은 화상 유발 후 단순 드레싱만을 실시한 대조군 1일, 2일 3일군과 화상을 유발한 후 저강도 레이저를 1일, 2일, 3일간 처리한 실험군으로 구분하여 진행하였고, 각 군에서 관찰한 표피성장인자의 발현 결과는 다음과 같다.

1. 대조군 1일군과 2일군에서는 "거의 없음", 3일 군에서는 "보통"의 표피성장인자의 발현 정도를 보였다.

2. 실험군 1일군에서 "보통", 2일군에서 "높음", 그리고 3일군에서 "매우 높음"으로 나타남으로써 레이저를 조사한 횟수에 따라서 표피성장인자의 발현정도도 증가하는 양상을 보였다.

결론적으로 저강도 레이저는 피부 화상의 치유과정에서, 표피성장인자를 활성화시킴으로써 치유시간을 단축시키고 치유를 촉진하는 것으로 사료된다.

<참고문헌>

김진복 : 최신외과학, 일조각, 2판, 285-293, 1995

박찬의, 박래준 : 광선치료 , 대학서림, 1996

박철종, 김조용, 이종옥 등 : 표피성장인자의 창상치유에 대한 효과, 대한피부과학회지, 33(1), 76-84, 1995

송인영, 이재형 : He-Ne 레이저 조사가 배양 섬유모세포의 활성에 미치는 영향, 대한물리치료학회지, 9(1), 71-79, 1997

유광수, 남성우, 박윤기, 배성수 : 특정전자파가 화상치료에 미치는 효과. 대한외과학회지, 60(2), 123-128, 2001

정문진 : 상처회복과 세포이동, Trends in Medical Research Cell Organization, 7(2), 20-26, 2000.

조윤기 : 피부노화와 extracellular matrix의 변화, Trends in Medical Research Cell Organization, 7(2), 2000

Babapour R, Glassberg E, Lask GP : Low-energy laser systems, Clinical in Dermatology, 13, 87-90, 1995

Ben-Don N, Shefer G, Irintchev A et al : Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro, Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research, 1448(3), 372-380, 1999

Bhora FY, Dunkin BJ, Batzri S et al : Effect of growth factors on cell proliferation and epithelialization in human skin, The Joural of Surgical Research, 59(2), 1995.

Brown GL, Curtsinger L, Jurkiewicz MJ, at al : Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor, Plast Reconst Surg, 88, 189-196, 1991

Buhrow SA, Cohen S, Staros, JV : J. Biol, Chem. 257, 4019, 1982

Carpenter G, King LJ, Cohen S : J. Biol, Chem, 254, 4884, 1972

Clark AJ, Ishii S, Richert, N et al : Epidermal growth factor regulates the expression of its own receptor, Preceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, 82(24), 8374-8378, 1985.

Cohen, SJ : Biol, Chem, 237, 1555, 1962

Coffy RJ, Derynck R et al : Production and auto-induction of transforming growth factor-α in human keratinocytes, Nature, 328, 817-820, 1987

Cruzz NI, Bayron FE, Suarez AJ : Accelerated healing of full-thickness burns by the use of high-voltage pulsed galvanic stimulation in the pig, Ann Plst Surg, 23(1), 49-55, 1989

Davis RJ : The nitogen-activated protein kinase signal transduction pathway, Jour Biol Chem, 268, 14553-14556, 1993

Gusak VK, Vasil'ev RG, Zubov, DA at, al : Role of polypeptide growth factor in the regulation of epidermal keratinocyte proliferation. TSitologiia i Genetika, 35(6), 64-73, 2001.

Karu T : Low intensity laser light action upon fibroblasts and lymphocytes, Laser Therpy, 175-179, 1991

Marjana TC, Mayumi K, Irwin MF et al. : Epidermal signal transduction and transcription factor activation in activated keratinocytes. Journal of Dermatological Science, 17, 167-181, 1998.

Nanney LB, Stoscheck CM et al : Immunolocalization of epidermal growth factor receptors in normal developing human skin, Jour Invest Dermatol, 94, 742-748, 1990

Morrone G, Guzzardella GA, Tigani D et al : Biostimulation of human chondrocytes with Ga-Al-As diode laser : 'in vitro' research. Artificial Cells, Blood Substitutes and Immobilization Biotechnology, 28(2), 193-201, 2000

Nickoloff BJ, Turka LA : Keratinocytes: key immunocytes of the integument. American Jourl of Pathology, 143, 325-331, 1993

Ohshiro T, Calderhead RG : A practical introduction, Low Level Laser Therphy, 37-41, 1988

Osada H, Kikuchi K, Makishima F et al : Inhibitory action of epiderstatin on EGF-stimulated growth of mouse epidermal. BALB/MK cells without direct effect on protein kinase activity, Oncology Research, 6(1), 11-17, 1994

Ozdemir F, Birtane M, Kokino S : The clinical efficacy of low-power laser therapy on pain and function in cervical osteoarthritis, Clin Rheumatology, 20(3), 181-184, 2001

Pao M, Xu W, Shi J : Gene expression of growth factors and their receptors in healing of partial thickness burn wound in rats, Chinese Jour of Plastic Surgery and Burns, 15(2), 85-88, 1999

Pan Y, Dai F, Chen Y : DNA contents and cycle analysis of porcine burn wounds treated with growth factors, Chinese Jour of Plastic Surgery and Burns , 12(4), 262-264. 1996

Ponec M, Gibbs S, Weerheim A et, al : Epidermal growth factor and temperature regulate keratinocyte differentiation, Arch of Dermatological Reserch, 289(6), 317-326, 1997

Randjelovic V, Vukic D : Laser induced neuronal regeneration, Jour Neurological Sciences, 150(1), 326, 2000

Rapaport FT, Converse JM, Horn L et, al : Altered reactivity of skin homografts in severe thermal injury. Ann. Surg. 159, 390-396, 1964

Repesh LA, Oberpriller JC : Ultrastructural studies on migrating epidermal cells during the wound healing stage of regeneration in the adult newt, Notophthalmus viridescens, Am. Jour. Anat, 159, 187-208, 1980

Rochkind S, Nissan M, Lubart et al : The in vivo-nerve response to direct low-energy-laser irradiation, Acta Neurochir, 94, 74-77, 1988

Sanz GS, Santos HX, Izquierdo HA et al : Experimental model for local application of growth factors in skin re-epithelialisation, Scandinavian Jour of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery, 34(3), 199-206, 2000

Schwartz F, Brodie C, Appel E et al : Effect of helium/neon laser irradiation on neve growth factor synthesis and secretion in skeletal muscle culture, Jour of Photochemistry and Photobiology B : Biology, 66(3), 195-200, 2002

Shefer G, Oron U, Irintchev A et al : Skeletal muscle cell activation by low-energy laser irradiation; a role for the MAPK/ERK pathway, 187(1), 73-80, 2001

Simoes RM, Teixeira DA, Maldonado EP, Rossi Wagner et al : Effects of 1047-nm neodymium laser radiation on skin wound healing, Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery, 20(1), 37-40, 2002

Simunovic Z, Ivankovich AD, Depolo A : Wound healing of animal and human body sport and traffic accident injuries using low-level laser therapy treatment; a randomized clinical study of seventy-four patients with control group, Jour Clin Laser Med Surg, 18(2), 67-73, 2000

Ueda M, Hirose M, Takei N, et al : Foot hyperalgesia after thoracic burn injury-histochemical, behavioral and pharmacological studies, Acta Histochem, Cytochem.,

34, 441-450, 2001

Ullrich A, Schlessinger J : Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity (review), Cell, 61, 203-212, 1990

Ward JM, Martyn JA : Burn injury-induced nicotinic acetycholin receptor changes on muscle membrane, Muscle Nerve, 16, 348-354, 1993

Xiao-bing Fu, Xiao-bing S, Tong-zhu S : Epidermal growth factor stimulates tissue repair in skin through skin stem cell activation, Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery 16(1), 31-35, 2002