

## Молекулярні маркери ефективного загоєння безкелоїдних ран

А.С. Драницина, О.В. Табурець, К.О. Дворщенко, Д.М. Гребіник, Т.В. Берегова, Л.І. Остапченко

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка; e-mail: alevtina.dranitsina@gmail.com

*Рубці, що виникають після загоєння, спричинюють різноманітні негативні фізіологічні та психологічні ефекти. На сьогоднішній день не знайдено специфічного лікування як для запобігання, так і зменшення будь-яких форм рубцювання. Відомо, що загоєння ран на шкірі дорослої людини починається з гострої запальної фази і закінчується утворенням шраму. На відміну від цього, в ембріонів на початку їх розвитку (перший і другий триместр) рани заживають майже ідеально: швидко без запалення й утворення рубців. Така здатність ембріональної шкіри вимагає наявності певних біохімічних сигналів, які починаються на клітинному рівні й призводять до експресії генів трансформуючих факторів, медіаторів запальної відповіді, складових позаклітинного матриксу тощо, які сприяють загоєнню ран без рубців. Незважаючи на численні дослідження, механізми та молекулярні шляхи загоєння ран все ще не з'ясовані для повного розуміння всієї системи ремоделювання шкіри. Метою нашої роботи було обговорення основних молекулярних маркерів, задіяних у загоєння ран шкіри без рубців, відповідних механізмів їх дії, а також проблем і перспектив лікування рубців. Ключові слова: ембріональна шкіра; шкіра дорослої людини; рана; молекулярні маркери; загоєння; лікування.*

### ШКІРА ЛЮДИНИ ТА РУБЦІ

Шкіра є найбільшим органом людського тіла і відповідає за підтримання гомеостазу, гемодинамічного контролю, сенсорного прийому, а також вродженого та адаптивного імунітету [1–4]. Вона найчастіше зазнає різноманітних ушкоджень. Рубцювання виникає після хірургічних і травматичних пошкоджень, є нормальним результатом процесу загоєння ран і може призвести до втрати функції, обмеження руху й спотворення ураженої ділянки [5]. Шкірні рубці являють собою макроскопічні фіброзні утворення в нормальній архітектурі тканини [1, 2, 6].

Гіпертрофічне рубцювання найчастіше виникає після деяких травм, таких як опіки, при затримці загоєння або після поранень на ділянках із високим рівнем напруження шкіри, наприклад, у ділянці дельтоподібних м'язів чи в зонах руху, де можуть виникнути

рубцеві обмеження (контрактури) рухів. На відміну від келоїдних, гіпертрофічні рубці лишаються в межах початкового ушкодження і можуть регресувати з часом [1, 7–9].

Загоєння ран являє собою складний і динамічний процес, з одного боку якого – надмірне запалення і як результат – патологічне рубцювання, з іншого – не загоєвання пошкоджень або хронічна рана. При рубцюванні накопичується колаген у відповідь на пошкодження тканини. До механізмів формування рубцевої тканини залучені запалення, фіброплазія, утворення грануляційної тканини та дозрівання рубця. При цьому запальні клітини рекрутуються до ділянок поранення. Гостра запальна відповідь супроводжується проліферацією фібробластів, які відповідають за синтез різних компонентів тканини, у тому числі колагену й фібрину. Під час гострої фази запалення клітини-попередники,

© .А.С. Драницина, О.В. Табурець, К.О. Дворщенко, Д.М. Гребіник, Т.В. Берегова, Л.І. Остапченко

кератиноцити, що циркулюють, мігрують до пошкодженої тканини. І внаслідок швидкої клітинної проліферації утворюються нові кровоносні судини та епітелій. Фібробласти потім диференціюють у міофібробласти, які, у свою чергу, відповідають за відкладення колагену й скорочення (контракцію) рани [2, 3, 6].

Формування рубця, у кінцевому рахунку, є результатом надмірного накопичення неорганізованого позаклітинного матриксу (ПМ). Хоча ремоделювання шрамів відбувається протягом місяців або років після початкової травми, повне відновлення нормальної архітектури ПМ ніколи не досягається. Зрілі шрами відновлюють лише 70 % початкової розтяжності нормальної шкіри, так само, частково, і її функціональність до ушкодження [10, 11]. Таким чином, загоєння ран є фібропроліферативною відповіддю, що призводить до неповної регенерації ураженої тканини та надмірного продукування неорганізованої сітчастої структури колагену – рубцевої тканини [2, 3, 7–10].

## **ЗАГОЄННЯ ПОРАНЕНЬ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ТКАНИНИ**

На відміну від дорослих, в ембріонів на початку їх розвитку (перший і другий триместр) рани заживають майже ідеально: швидко, без запалення й утворення рубців [1, 2, 6, 12, 13]. Це спостереження вперше було зареєстровано понад три десятиліття тому [14] і згодом було підтверджено як на моделях тварин, так і на людських ембріонах [1–3, 6]. З того часу інтенсивна науково-дослідницька робота була зосереджена на розкритті механізмів, що лежать в основі загоєння ембріональних ран без шрамів. У відповідь на пошкодження тканини дерма плода має здатність регенерувати колагеновий матрикс без деструкцій, до вихідної структури. Крім того, такі дермальні структури плода, як сальні залози й волосяні фолікули, також нормально відновлюються після пошкоджень [6, 15]. Хоча

точні механізми ембріонального загоєння ран без рубців ще досі невідомі, вважають, що головні відмінності можуть бути в складових ПМ, у запальній реакції, клітинних медіаторах, різних рівнях експресії певних генів і у функціональній активності стовбурових клітин плода та дорослого [1–3, 6, 12, 16–18].

Здатність ембріонів до загоєння без шрамів спочатку пов'язували зі стерильним внутрішньоутробним середовищем. Амніотична рідина багата на гіалуронову кислоту та фактори росту, у той же час у ній відсутні бактерії та стимулятори запалення, отже, вважалось, що саме вона сприяє загоєнню без рубців [2, 10]. Однак подальші дослідження показали, що внутрішньоутробне середовище не є не лише необхідним, але і не достатнім для забезпечення загоєння ран без шрамів. Так, експерименти показали, що при пересадженні шкіри дорослої вівці на спину плода, який знаходився в амніотичній рідині в матці, рани загоювалися з рубцями, у той час як сусідні рани на шкірі плода загоювалися без рубців [2, 19].

Знання й розуміння механізмів дії молекулярних маркерів, які беруть участь в загоєнні ембріональних ран шкіри, може сприяти лікуванню та профілактиці пошкоджень шкіри. Таким чином, метою нашого огляду було обговорення основних недавно знайдених біомаркерів, пов'язаних із загоєнням ран без рубців, так і деяких можливих засобів їх лікування.

## **БІОМАРКЕРИ ЗАГОЄННЯ РАН БЕЗ РУБЦІВ**

### *Позаклітинний матрикс*

ПМ відіграє важливу роль в адгезії клітин, диференціюванні та проліферації. Матрикс являє собою динамічний шар колагену, глікозаміногліканів, протеогліканів і білків адгезії, які зазнають низку змін, перш ніж досягнуть дорослого фенотипу [2, 6, 16]. Ембріональний ПМ є оптимальним середовищем для полегшеної клітинної міграції та проліферації,

що, відповідно, може мати важливе значення в процесі загоєння ран без шрамів.

*Вміст колагену.* Існують фенотипові відмінності між вмістом колагену та патернами його зшивок в ембріональних і постнатальних ранах. В ембріональних ранах колаген III типу швидко формує тонку сітчасту структуру, яка нічим не відрізняється від неушкодженої шкіри. На пізніх термінах вагітності в плоді при формуванні рубців виявлено довші колагенові волокна з більшим простором між ними. У постнатальному періоді переважання колагену III типу в ранах забезпечує регенерацію тканини з більшим ступенем міцності й жорсткості, що може перешкоджати клітинній міграції та регенерації [20].

*Гіалуронова кислота* є нессульфатованим глюкозаміногліканом – одним з основних компонентів ПМ. При загоюванні ембріональних ран без рубців вміст гіалуронової кислоти збільшується швидше, ніж у дорослих ранах, і ембріональні фібробласти експресують більше до неї рецепторів. Окрім цього, рани плоду мають меншу кількість таких прозапальних цитокінів, як інтерлейкін-1 (IL-1) і фактор некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП), які інгібують синтез гіалуронової кислоти [19]. Загалом, у шкірі плоду її більше, ніж у дорослого, тому вважається, що цей маркер також сприяє загоєнню без рубців [2, 6, 22].

*Модулятори протеогліканів ПМ* регулюють синтез колагену, його організацію й деградацію. Показано, що вміст декорину, модулятора фібрилогенезу колагену, підвищувався в ранах дорослих, у той час як рівень фібромодуліну, іншого модулятора фібрилогенезу, був нижчим у ранах дорослих [20, 23]. У свою чергу фібромодулін інактивував трансформуючий фактор росту  $\beta$  – TGF- $\beta$ , ключового цитокіну, задіяного у процес регенерації ран, і отже, сприяв загоєнню ран без рубців [6, 23].

Фермент лізілоксидаза відповідає за вбудовування колагенової сітки в ПМ. Також виявлено залучення цього модулятора до патогенезу деяких хвороб, пов'язаних із

фіброзом [16]. Показано, що рівень експресії гена лізілоксидази за фізіологічних умов майже в 2 рази перевищував відповідний рівень у шкірі дорослих, хоча при пораненнях експресія цього гена зростала і в дорослих людей [23]. Ефективний процес ремоделювання шкіри, припускають, пов'язаний із збалансованою дією таких металопротеїназ ПМ, як колагенази, желатиназа А та стромелізин-1, які є відповідальними за деградацію різних типів колагенових волокон, еластину, протеогліканів, фібронектину та ламініну [2]. Молекулярні дослідження показали, що за рахунок синтезу цих протеаз відбувається відновлення ПМ, епітелізація й ангіогенез [2, 6]. Так, в дослідженнях, де описано механізм дії цих ферментів при загоєнні ран, показано, що на ранніх етапах розвитку шкіри плоду желатинази А і В мають низьку активність, яка зростає з часом в ембріональних клітинах епідермісу, фібробластах, ендотеліальних клітинах і кератиноцитах. Такі самі зміни активності були знайдені і для металопротеїназ [24].

*Білки адгезії.* Ембріональні рани без шрамів мають здатність до активації білків адгезії ПМ. Ці білки опосередковують прикріплення клітин до ПМ та залучають фібробласти, кератиноцити й ендотеліальні клітини до місць пошкодження [25]. Трансмембранний глікопротеїн інтегрин діє як рецептор для компонентів ПМ і сприяє адгезії, міграції, проліферації та диференціації клітин. Серед найбільш важливих компонентів ПМ є рецептори фібронектину ( $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 3$ ,  $\alpha 3\beta 1$ ), фібронектину та тенасцину ( $\alpha v\beta 6$ ), колагену ( $\alpha 2\beta 1$  і  $\alpha 3\beta 1$ ), ламініну й колагену IV типу ( $\alpha 6\beta 4$  і  $\alpha 6\beta 1$ ). При дослідженнях пошкоджень шкіри плоду було продемонстровано високий рівень експресії рецепторів колагену ( $\alpha 2$ ), ламініну ( $\alpha 3$  і  $\beta 4$ ) і колагену/фібронектину ( $\alpha 3$ ). Також на ранніх стадіях розвитку плоду кроликів і мишей було виявлено експресію генів тенасцину й фібронектину вже через 1–4 год після поранення, тоді як у дорослих пізніше: через 12–24 год [26]. Швидко

накопичення тенасцину в ембріональних ранах може стимулювати ранню міграцію клітин, у той час як фібронектин у великій кількості – прикріплення клітин і загоєння рани. Зазначені фактори, разом узяті, можуть сприяти швидкій реконструкції матриксу, що має менше рубців [2, 6, 26].

Серед інших білків клітинного цитоскелета, інгібування синтезу білка Flightless-I (Flii), члена родини ремодулюючих актинів, відіграє важливу роль у закритті рани. Так, при аналізі поранень на ембріональній мишачій шкірі було показано, що Flii тимчасово мігрував із цитоплазми в ядро кератиноцитів, які знаходилися на відстані від дна рани, зменшуючи пошкодження до 92 % від початкової площі. Однак при підвищеній експресії гена цього білка спостерігали менше ніж 25 % загоєння ран. Це свідчило про зниження рівня експресії і ремодельовання ушкодженої тканини [27].

*HASA* (гіалуронатстимулювальна активність) – загальний ембріональний глікопротеїн, який опосередковує загоєння ран і сприяє руху фібробластів через ПМ, практично відсутній у дорослих при загоєнні ран [28]. Синтез гіалуронової кислоти відбувається у фібробластах і інгібується при додаванні  $TGF-\beta_1$  у концентрації нижче від 0,1 нг/мл [28].

При вивченні регенерації фрагментів ембріонального епідермісу, які культивували та піддавали тепловому шоку, було виявлено синтез таких білків: кератину-17 (K17), антилейкопротеїнази шкіри (SKALP) і кератину-14 (K14), яка й надалі спостерігалася протягом 21 доби. Порівняно зі шкірою дорослих, синтез K17 було виявлено за фізіологічних умов, у той час як K14 і SKALP були знайдені в епідермісі при регенерації [18]. Таким чином, можна співвідносити зазначені маркери із сигнальними шляхами, задіяними в реепітелізацію шкіри при ембріональному загоєнні ран.

У дермі було показано синтез сульфату хондроїтину як у шкірі плода, так і дорослого в однакові періоди часу [18]. Проте в ембрі-

ональній шкірі цей маркер було виявлено в папілярній дермі та у верхній зоні сітчастого шару дерми на 16-му тижні розвитку плода. Тоді як у дермі дорослого сульфат хондроїтину був ідентифікований тільки в базальній мембрані дермально-епідермального з'єднання та кровоносних судинах. Це свідчить про те, що здатність відновлення ПМ зумовлюється синтезом зазначених білків, зокрема, на різних ділянках ран [18].

Також проліферація кератиноцитів ембріональної шкіри пов'язана з наявністю кератину-і67, кератину-10 та інволюкрину в базальному шарі епідермісу й дерми. Так, між 13-м і 14-м тижнем вагітності було показано значно підвищений синтез кератину-і67 порівняно з відповідними рівнями, отриманими пізніше і в обох шарах шкіри дорослого [18].

### ***Медіатори загоєння шкіри без рубців***

Ембріональні рани швидко загоюються без запального процесу. Це спостереження стимулювало інтерес до ролі клітинних запальних медіаторів, цитокінів і факторів росту, задіяних у загоєння ран плода. У дорослих тварин, порушення цілісності тканин стимулює активацію тромбоцитів, продукцію цитокінів, хемотаксис макрофагів і нейтрофілів [29]. Крім того, при введенні прозапальних молекул у рани без шрамів спостерігалася дозозалежне зростання кількості макрофагів, нейтрофілів, збільшення відкладення колагену й, відповідно, рубцювання рани. І навпаки, при зменшенні запалення в постнатальних ранах було також показано деяке зменшення рубців [30]. Це свідчить про важливу роль саме запалення у формуванні рубців [6].

*Тромбоцити.* Відсутність запального інфільтрату в ембріональних ранах без шрамів може бути частково пояснено меншим ступенем дегрануляції й агрегації тромбоцитів. Хоча не було показано ніякої різниці в розмірах, організації або кількості тромбоцитів у пораненнях плода та дорослого, ембріональні тромбоцити продукували менше тромбоцитарного фактора росту (PDGF, ТРФ),  $TGF-\beta_1$

і TGF- $\beta_2$ . Також прозапальні сигнали, які вивільнялися з тромбу, відповідали за регулювання ранньої стадії процесу загоєння рани. Хоча ембріональні тромбоцити і стимулювали вивільнення фактора росту, здатність до агрегації тромбоцитів у плода залежала від віку [31]. Так, на ранніх термінах вагітності в плода при ранозагоєнні тромбоцити не агрегували, а на пізніх агрегували так само ефективно, як і постнатальні, і відповідно, з'являлися рубці [6]. Таким чином, зниження функції тромбоцитів, як в ембріонах на ранніх строках розвитку, також може бути одним із механізмів загоєння поранень без шрамів.

*Нейтрофіли* нейтралізують і поглинають бактерії. Цитокіни TGF- $\beta_1$  і ТРФ рекрутують нейтрофіли до місця пошкодження. У свою чергу вони вивільняють власні стимулюючі цитокіни та хемоатрактанти вже для фібробластів і макрофагів [29]. Було виявлено залежну від віку плода як меншу кількість нейтрофілів у ранах, так і здатність до фагоцитозу патогенних бактерій у дослідженнях ембріонів вівці [30].

*Фібробласти*. Синтез і ремоделивання ПМ фібробластами має важливе значення для загоєння ран. Фібробласти дорослих та ембріонів знаходяться безпосередньо в пошкодженій тканині або рекрутуються до місця ушкодження за рахунок розчинних хемоатрактантів, секретованих макрофагами й нейтрофілами [31]. Фібробласти ембріонів та дорослих особин характеризуються відмінностями в запальній реакції, синтезі цитокінів, синтетичних функціях колагену, кількості гіалуронової кислоти та інших компонентів ПМ. Було продемонстровано *in vitro*, що ембріональні фібробласти синтезували більше колагену III і IV типів, ніж дорослі особини, що у свою чергу корелювало зі зростанням активності пролілгідролази, регулятора в обмеженні синтезу колагену [32]. Також у пораненнях дорослих особин синтез колагену затримувався під час проліферації фібробластів. На відміну від цього, ембріональні фібробласти одночасно проліферували

й синтезували колаген [31]. Вони також мали більше поверхневих рецепторів для гіалуронової кислоти, що призводило до посилення міграції фібробластів. Також було виявлено, що TGF- $\beta$  пригнічував міграцію скупчень фібробластів *in vitro* і його кількість зменшувалась в ембріональних ранах [33].

*Міофібробласти* (скоротливі фібробласти) виявляють за наявності  $\alpha$ -актину гладеньких м'язів. Вони з'являлися в ранах дорослих через тиждень після поранення, і їх кількість корелювала з контрактуєю і ступенем рубцювання, у той час як у плода рани практично не містили міофібробластів [34]. Також уповільнений апоптоз фіброзних міофібробластів спостерігали внаслідок генетичних змін p53 [1, 12].

*COX-2*. Метаболіти і ферменти каскаду арахідонової кислоти, у тому числі фермент циклооксигеназа-2, COX-2 (кодується геном – *Ptgs2*) і його продукт простагландин E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), як відомо, є важливими медіаторами запальної реакції. Зокрема показано швидку зміну рівня експресії *Ptgs2* у базальних кератиноцитах, імунних і стромальних клітинах у відповідь на такий запальний стимул, як пошкодження шкіри внаслідок поранень та опіків [2, 12, 35]. Простагландини регулюють індукцію судинної проникності, інфільтрацію й активацію запальних клітин: синтез молекул клітинної адгезії та міграцію нейтрофілів із мікроциркуляторного русла до місця ушкодження. Водночас було показано інгібування міграції фібробластів, подальше активування прозапальних клітин, затримку загоєння й утворення рубців при введенні PGE<sub>2</sub> в рани ембріонів на початку їх розвитку [2, 13, 35, 36]. Припускають, що активовані фіброласти модулюють підвищення експресії *Ptgs2*, а PGE<sub>2</sub> у свою чергу за допомогою EP<sub>1</sub>-рецептора чинить мітогенну дію на фібробласти, стимулює їх міграцію і / або проліферацію, синтез колагену, призводячи до утворення шрамів на шкірі [12]. Активування експресії *Ptgs2* може призвести до підсилення профібріотичного TGF- $\beta_1$ -сигнального шляху [12].

### **Цитокіни й передача сигналу**

*ІЛ* – це цитокіни, які є важливими в хемотаксисі й активації запальних клітинних медіаторів. *ІЛ-6* стимулює хемотаксис моноцитів та активацію макрофагів, міграцію кератиноцитів, на доданок до стимуляції ангиогенезу в дорослих при загоєнні шкіри. *ІЛ-8* значною мірою активується у фібробластах дорослих особин у відповідь на низькі концентрації ТРФ, залучає нейтрофіли та стимулює утворення нових судин при ранах [37]. Так, поранення призводило до швидкого збільшення вмісту *ІЛ-6* і *ІЛ-8*, що зберігалось протягом 72 год у дорослих особин, але зникало через 12 год у клітинах плода. Взагалі експресія генів *ІЛ-6* і *ІЛ-8* була на значно нижчому рівні в ембріональних фібробластах на ранніх стадіях розвитку порівняно з дорослими особинами. При введенні *ІЛ-6* у рани ембріонів спостерігалось утворення рубців [37].

*ІЛ-10* чинить протизапальну дію за рахунок інгібування синтезу *ІЛ-6* і *ІЛ-8*. Так, на ембріональній трансгенній моделі мишей було показано, що при синтезі *ІЛ-6* на тлі відсутності *ІЛ-10* при будь-яких пораненнях виявлялося зростання синтезу колагену, зокрема аномальне розташування його волокон, втрата похідних шкіри (волосся, потові залози тощо), інфільтрація запальних клітин та утворення рубців. Водночас при введенні *ІЛ-10* в рани дорослих тварин, запальний процес зменшувався і загоєння відбувалося без формування рубців [38]. Отже, описана стратегія може мати потенційне терапевтичне застосування при лікуванні поранень у дорослих особин.

*TGF-β* і його ізоформи беруть участь у всіх етапах процесу загоєння ран і мають протилежні ефекти на формування рубця та загоєння ран. Цей цитокін є потужним хемоаттрактантом макрофагів, нейтрофілів і фібробластів; стимулює синтез ПМ, а також запобігає його деградації підвищенням синтезу тканинних інгібіторів металопротеїназ (ТІМП) і пригнічення синтезу протеаз [28]. *TGF-β* також був ідентифікований як

індуктор ефекторних Т-клітин, таких як Th17 клітини при запальному процесі [39]. *TGF-β<sub>1</sub>* спричинює множинні впливи на різні типи клітин, беручи участь у регуляції росту клітин, їх диференціації, апоптозі, імунній відповіді та ремоделюванні екстрацелюлярного матриксу, зокрема за рахунок SMAD-шляху, медіатора CTGF (CCN2), протеоглікана декорину, зв'язуючого білка p311 тощо [1, 40–42]. Ембріональні рани без рубців містили менше *TGF-β<sub>1</sub>*, ніж нео- та постанатальні. При введенні цього маркера в ембріональні тканини утворювалася рубцева тканина; виявлено його залучення до фіброзу стимулюванням трансформації фібробластів у міофібробласти [12, 43, 44], так само як і пригнічення утворення шрамів при зниженні експресії *Tgfb1* та синтезу цього фактора [1, 2, 6, 12, 43, 45].

Експресія *Tgfb2* була на базальному рівні в ембріональних клітинах при пораненні, але зростала в ранах дорослих особин [1, 2, 6, 43]. Крім того, лікування ран дорослих щурів за допомогою нейтралізуючих антитіл до *TGF-β<sub>1</sub>* і *TGF-β<sub>2</sub>* сприяло пригніченню формування рубців [44]. Відносна частка ізоформ *TGF-β* та їх біологічна активність, але не абсолютна кількість будь-якої однієї ізоформи, могла визначати фенотип рани [1, 2, 6]. Так, в ембріональних ранах без шрамів, експресія *Tgfb3* зростала, у той час як у *Tgfb1* не змінювалась. І навпаки, рівень останньої збільшувався при зменшенні експресії *Tgfb3* при експериментальному рубцюванні поранень плода [47]. При лікуванні ран дорослих особин екзогенним *TGF-β<sub>3</sub>* пригнічувалось утворення рубців [48]. Це свідчить про те, що співвідношення кількості *TGF-β<sub>3</sub>* до *TGF-β<sub>1</sub>* може визначати, чи буде регенерувати тканина з утворенням або без утворення рубців [1, 2, 6].

При аналізі фрагментів шкіри, отриманих від людей-донорів різного віку, було встановлено, що *TGF-β<sub>1</sub>* пригнічував синтез ембріональних фібробластів *in vitro*, хоча протилежний ефект був виявлений у пост-

натальних фібробластах. Більше того, при поєднанні з ізоформою ТРФ - PDGF-BB, останній пригнічував TGF- $\beta_1$  в ембріональних фібробластах, зокрема їх проліферацію в ПМ, проте посилював у дорослих особин [49]. Перекис водню й продукти фагоцитарної секреції перешкождали загоєнню шрамів, можливо, за рахунок індукції TGF- $\beta_1$ . H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> у свою чергу також збільшував проліферацію ембріональних фібробластів, які могли б сприяти посиленню фіброзу [50].

**Фосфорилування.** На основі виявленого диференціального синтезу рецепторів фібробластів ембріонів мишей було запропоновано існування кореляції між різними формами фосфорилування тирозину в ембріональних та постнатальних клітинах [2]. Рецептори епідермального фактора росту (ЕФР, EGF), а саме рецептор 1, що містить домен, гомологічний білку дискоїдин (DDR1 – discoidin domain receptor tyrosine kinase 1) і Shc (білок, який має SH2-домен) були виявлені в ембріонах і, ймовірно, пов'язані з швидкою реепітелізацією, організацією волокон колагену та регенерацією пошкодженої тканини [51]. Наприклад, тирозин Shc ставав фосфорильованим під дією багатьох факторів росту, зокрема, ЕФР [52].

### **Профіль експресії генів**

Геномний аналіз за допомогою мікрочіпів показав, що ембріональні рани без шрамів і постнатальні поранення з рубцями мали різні профілі експресії генів [53]. Так, молекулярні дослідження патернів генів, задіяних у процес загоєння ембріональних і постнатальних ран протягом трьох різних періодів, виявили експресію генів 321, 216 і 27 на 1, 12 та 24 год після пошкодження шкіри відповідно. В ембріональній шкірі після ушкоджень інтенсивна транскрипція генів спостерігалася до 12 год, з подальшим зниженням після першої доби, що свідчить про швидкість процесу загоєння [2, 53].

Фактори транскрипції генів: CP2-like-2, епітеліальний трансактиватор Grainyhead-like і

модулятор ретинобластоми проявляли вищезазначений профіль експресії, так само як і гени, відповідальні за проліферацію клітин: JAK – тирозин-кіназа-2 (янус кіназа 2) і ген 2, що диференційно експресується в пухлинних клітинах (англ. the tumor differentially expressed-2 gene). Експресія інших генів, що кодують транскрипційні фактори негайної ранньої відповіді-3 і EGR-1 (англ. early growth response 1) зменшувалася після 24 год. Окрім цього, у постнатальних ранах було виявлено експресію генів сергліцину (кор-білок гематопоетичного протеоглікану), хемокіну-12 і CD63, що корелювало з утворенням фіброзної тканини та рубцюванням [53].

Також було запропоновано, що зміна експресії специфічних фрагментів РНК – мікроРНК може бути потенційним регулятором та ініціатором при ранозагоєнні як ембріональних, так і постнатальних поранень. При аналізі фрагментів, отриманих із людських тканин, показано, що експресія мікроРНК-29b, -29c і -192 корелювала з модуляцією різних білків у ПМ і сигнальних шляхів, задіяних у ремоделювання шкіри [54].

Ще один важливий аспект молекулярних досліджень стосується апоптотичної відповіді, опосередкованої каспазою-7 на ранніх етапах вагітності. Таким чином, було виявлено, що вона відповідає за інактивацію і розщеплення поліАДФ-рибозополімерази (PARP) і, як наслідок, запрограмоване видалення пошкоджених клітин. Так, беручи до уваги зазначений механізм, знайдено знижений рівень експресії гена каспази-7 на тлі підвищеного вмісту АКТ (RAC- $\alpha$  серин/треонін-протеїнкіназа) у гіпертрофованих пораненнях, що призводило до збільшення кількості апоптичних фібробластів та утворення рубців [55].

## **ЛІКУВАННЯ**

Нині не знайдено специфічного лікування як для запобігання, так і зменшення будь-яких форм рубцювання. Численні клінічні дослід-

ження, сучасні методи лікування й запропоновані профілактичні процедури здебільшого не стандартизовані й вимагають подальшого аналізу [1–3, 6–12, 18]. Лишається актуальним пошук доступної тваринної моделі для досліджень рубцювання шкіри, незважаючи на вже отримані дані на деяких моделях тварин, включаючи кролика й червоних свиней породи Дюрок. Однак ще не з'ясовано, чи будуть вони адекватними при порівнянні механізмів, що лежать в основі утворення шрамів у людини [1, 56].

Деякі перелічені в роботі механізми, пов'язані з розвитком гіпертрофічних рубців, були використані для маніпулювання процесом загоєння й зменшення рубцювання. У низці досліджень запропоновано використовувати антитіла проти TGF- $\beta$  задля гальмування фіброзу та запобігання утворення звичайних шрамів і гіпертрофічних рубців після загоєння [1, 57]. Проте при цьому спостерігали виникнення хронічних або незагойних ран [57]. Використання різноманітних природних інгібіторів TGF- $\beta$ : декорину, біглікану тощо пригнічувало фіброз, проте не впливало на потужну TGF- $\beta$ -опосередковану імунну реакцію [58]. При блокуванні його рецепторів інгібіторами кінази (наприклад, SD-208) чи домінантною негативною конструкцією TbetaRIIDeltacyt (проти TGF $\beta$ RII) показано зниження експресії профібротичних генів на моделях тварин [59]. Також виявлено, що  $\beta$ -глікан (рецептор TGF- $\beta$ III) пригнічував SMAD-сигнальний шлях і фосфорилування кіназ АКТ та ERK (англ. extracellular-signal-regulated kinase) [1], зокрема *in vivo*. Автори припускають, що розчинна форма  $\beta$ -глікану може запобігти фіброзу на тваринних моделях [60]. Клінічні спроби маніпулювання з TGF- $\beta_1$ , як і профілактичне введення в ділянки пошкодження TGF- $\beta_3$  в решті-решт не призвели до запобігання утворення рубців [1, 61].

Найпоширенішими в клінічній практиці є такі методи лікування відкритих ран і поверхневих опіків шкіри II–IIIА ступеня, що не

вимагають оперативного втручання: використання мазей, гелей, пов'язок, застосування антибіотиків. Проте висока вартість лікування й недостатня ефективність існуючих препаратів, зокрема при гоєнні гіпертрофічного рубцювання, спонукає шукати нові методи виліковування [1, 62, 63]. Водночас розуміння механізмів, що лежать в основі утворення рубців, зокрема гіпертрофічних, допоможе у подальшому пошуку терапевтичних агентів для лікування рубців [1, 12, 62, 63].

Меланіни – пігменти шкіри, волосся, райдужки, чорної субстанції мозку тощо належать до поліфенольних сполук. Відомо, що такі сполуки виявляють репаративну, антиоксидантну, протизапальну, ранозагоювальну, імуномодулювальну та протипухлинну властивості [64, 65]. Раніше нами було показано, що меланін, продуцентом якого є антарктичні чорні дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra*, штам X1-M, висіяні зі зразків вертикальних скель острова Галіндез (Українська антарктична станція «Академік Вернадський»), має виражену цитопротекторну дію, сприяє швидкому загоєнню ран різної етіології і може бути запропонований як новий дерматотропний препарат [66, 67]. Крім того, також нами було показано підвищення рівня експресії генів *Tgfb1* і *Ptgs2* під час загоєння експериментальних різаних і гнійно-некротичних ран шурів. При застосуванні меланіну за тих самих умов знижувався рівень експресії цих генів на тлі відсутності утворення рубців [68].

Іншими авторами було виявлено протилежну дію меланіну в культурі клітин: при сприянні різних факторів меланоцити стимулювали проліферацію фібробластів, посилювали синтез колагену й позаклітинного матриксу і навпаки – активували TGF- $\beta_1$ -сигнальний шлях і, відповідно, сприяли розвитку патологічного рубцювання [69].

Продуцентом меланіну, задіяному в нашому дослідженні, є дріжджеподібні гриби, що живуть в екстремальних умовах Антарктичного півострову та використовують меланін



для захисту від шкідливого ультрафіолетового випромінювання, перетворюючи енергію на безпечну кількість тепла. Завдяки цій властивості меланін поглинає до 99,9 % ультрафіолету, попереджає утворення вільних радикалів на мінімальному рівні і може бути сильнішим радіопротектором, антиоксидантом тощо порівняно з іншими меланінами [64, 67].

Щодо можливих механізмів впливу меланіну як поліфенольної сполуки на експресію проаналізованих генів під час загоєння ушкоджень шкіри різної етіології, перш за все, слід зазначити його виражену цитопротекторну дію: він знижував активність процесів перекисного окиснення ліпідів, збільшував активність ферментів антиоксидантної системи, запобігаючи пошкодженню ДНК; впливав на продукцію цитокінів: TNF- $\alpha$ , IL-6, VEGF тощо за рахунок, наприклад, впливу на експресію ядерних рецепторів PPAR [70]; посилював експресію eNOS та виділення протизапальних цитокінів задля зниження інтенсивності запалення й утворення рубців при ранозагоєнні [64–67]. Більш детально з'ясування специфічних молекулярних механізмів впливу меланіну на процес ранозагоєння на різних ранових моделях потребує подальших досліджень. Отже, отримані дані можуть свідчити про доцільність застосування препарату для лікуванні гнійно-запальних процесів у шкірі, адже й надалі триває пошук терапевтичних агентів для запобігання та зменшення будь-яких форм рубцювання.

## ВИСНОВКИ

Нині не знайдено специфічного лікування як для запобігання, так і зменшення будь-яких форм рубцювання. До другого триместру вагітності, шкіра плода зберігає специфічні властивості, які призводять до повного відновлення тканинної архітектури епідермісу, дерми та похідних шкіри. Ця здатність ембріональної шкіри вимагає наявності біохімічних сигналів, які починаються на

клітинному рівні й призводять до експресії певних генів, синтезу трансформуючих факторів росту, специфічних рецепторів і маркерів, які забезпечують загоєння ран без утворення рубців. І розуміння функцій цих біомаркерів є необхідним для вивчення механізмів і молекулярних шляхів загоєння ран без шрамів і, отже, для профілактики та лікування пошкоджень шкіри за допомогою відповідних препаратів.

**А.С. Драницина, О.В. Табурец, Е.О. Дворщенко, Д.Н. Гребиньк, Т.В. Береговая, Л.И. Остапченко**

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ БЕЗКЕЛОИДНЫХ РАН

Шрамы, возникающие после заживления, вызывают разнообразные негативные физиологические и психологические эффекты. На сегодняшний день не найдено специфического лечения как для предотвращения, так и уменьшения любых форм рубцевания. Известно, что заживление ран на коже взрослого человека начинается с острой воспалительной фазы и заканчивается образованием шрама. В отличие от этого, у эмбрионов в начале их развития (первый и второй триместр) раны заживают почти идеально: быстро без воспаления и образования шрамов. Такая способность эмбриональной кожи требует наличия определенных биохимических сигналов, которые начинаются на клеточном уровне и приводят к экспрессии генов трансформирующих факторов, медиаторов воспалительного ответа, составляющих внеклеточного матрикса и т.д., которые способствуют заживлению ран без шрамов. Несмотря на многочисленные исследования, механизмы и молекулярные пути заживления ран еще не выяснены для полного понимания всей системы ремоделирования кожи. Целью нашей работы было обсуждение основных молекулярных маркеров, задействованных в заживлении ран кожи без шрамов, соответствующих механизмов их действия, а также проблем и перспектив лечения шрамов. Ключевые слова: эмбриональная кожа; кожа взрослого человека; рана; молекулярные маркеры; заживление; лечение.

**A.S. Dranitsina, O.V. Taburets, K.O. Dvorshchenko, D.M. Grebinyk, T.V. Beregova, L.I. Ostapchenko**

## EFFECTIVE SCARLESS WOUND HEALING MOLECULAR MARKERS

The adverse physiological and psychological effects of scars are broad, and there are currently no reliable treatments to

prevent scarring. In contrast to adult wounds, early gestation fetal skin wounds repair rapidly and in the absence of scar formation. This intrinsic ability of fetal skin requires biochemical signals, which start at the cellular level and lead to secretion of transforming factors and expression of receptors, and specific markers that promote wound healing without scar formation. Despite extensive investigation, the mechanisms and molecular pathways of wound healing still need to be elucidated to achieve a complete understanding of this remodeling system. For some time, it has been known that significant differences exist among the extracellular matrix, inflammatory response, cellular mediators, and gene expression profiles of fetal and postnatal wounds. The aim of this paper is to discuss the main molecular markers involved in scarless skin wound healing, their respective mechanisms of action as well as problems and perspectives of scarring treatment.

Key words: fetal; adult skin; wound; molecular markers; healing; treatment.

## REFERENCES

- Penn JW, Grobelaar AO, Rolfe KJ. The role of the TGF- $\beta$  family in wound healing, burns and scarring: a review. *Int J Burn Trauma*. 2012; 2(1):18–28.
- Helmo F R, Machado J R, de Oliveira Guimarães C S, de Paula Antunes Teixeira V, dos Reis M A, Corrêa R R M. Fetal wound healing biomarkers. *Disease Markers*. 2013; 35(6):939–44.
- Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC., Ramirez H, Nusbaum AG., Sawaya A, Patel SB., Khalid L, Isseroff RR, Tomic-Canic M. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv in wound care*. 2014; 3(7):445–64.
- Vereschaka VV. Physical, mechanical and chemical properties of the skin in healthy all ages and people with symptoms of senile flabbiness facial skin: clinical and morphological parallels research methodology. *Dermatol and Venerol*. 2008; 1 (39): 20–33. [Ukrainian].
- Vereshchaka VV. Etiology and pathogenesis of senile face and sagging skin its structural mechanisms of change in modern man Caucasoid type / VV Vereshchaka. *Science opinion*, 2008.–481 p. [Ukrainian].
- Barrett J.L, Michael TL, Lorenz HP. Scarless fetal wound healing: a basic science review. *Plast Reconstr Surg*. 2010; 126(4):1172–80.
- Ehrlich HP, Kelley SF. Hypertrophic Scar: An interruption in the remodelling of repair- a laser Doppler blood flow study. *Plast Reconstr Surg*. 1992; 90:993–8.
- Reish RG, Eriksson E. Scars: a review of emerging and currently available therapies. *Plast Reconstr Surg*. 2008; 122:1068–78.
- Wang J, Dodd C, Shankowsky HA, Sett PG, Tredget EE. Deep dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring. *Lab Invest*. 2008; 88:1278–90.
- Madden JW, Peacock EE. Studies on the biology of collagen during wound healing: Dynamic metabolism of scar collagen and remodeling of dermal wounds. *Ann Surg*. 1971; 174:511–20.
- Colwell AS, Phan TT, Kong W, et al. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. *Plast Reconstr Surg*. 2005; 116:1387–90.
- Wilgus TA, Bergdall VK, Tober KL, Hill KJ, Mitra S, Flavahan NA, Oberyszyn TM. The impact of cyclooxygenase-2 mediated inflammation on scarless fetal wound healing. *Am J Pathol*. 2004; 165(3):753–61.
- Matthew PC, Martins VLC, O'Toole EA. Metalloproteinases and Wound Healing. *Adv in wound care*. 2015; 4(4):225–34.
- Rowlatt U. Intrauterine healing in a 20-week human fetus. *Virchows Arch*. 1979; 381:353–36.
- Rendl M, Lewis L, Fuchs E. Molecular dissection of mesenchymal-epithelial interactions in the hair follicle. *PLoS Biol*. 2005; 3:1910–24.
- Beanes SR, Dang C, Soo C, Lorenz HP. Ontogenetic transition in the fetal wound extracellular matrix correlates with scar formation. *Wound Repair Regen*. 2001; 9–151.
- Wagers AJ, Christensen JL, Weissman IL. Cell fate determination from stem cells. *Gene Ther*. 2002; 9:606–12.
- Coolen NA, Schouten KC, Boekema BK, Middelkoop E, Ulrich MM. Wound healing in a fetal, adult, and scar tissue model: a comparative study. *Wound Repair and Regen*. 2010; 18(3):291–301.
- Longaker MT, Whitby DJ, Ferguson MW, Lorenz HP, Harrison MR, Adzick NS. Adult skin wounds in the fetal environment heal with scar formation. *Ann Surg*. 1994; 219:65–72.
- Beanes SR, Hu FY, Soo C, Dang CM, Urata M, Ting K, Atkinson JB, Benhaim P, Hedrick MH, Lorenz HP. Confocal microscopic analysis of scarless repair in the fetal rat: Defining the transition. *Plast Reconstr Surg*. 2002; 109:160–70.
- Kennedy CI, Diegelmann RF, Haynes JH, Yager DR. Proinflammatory cytokines differentially regulate hyaluronan synthase isoforms in fetal and adult fibroblasts. *J Pediatr Surg*. 2000; 35:874–879.
- Mast BA, Diegelmann RF, Krummel TM, Cohen IK. Hyaluronic acid modulates proliferation, collagen and protein synthesis of cultured fetal fibroblasts. *Matrix*. 1993; 13:441–446.
- Lorenz HP, Soo C, Beanes SR. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in scarless fetal wound healing. *Surg Forum*. 2001:397–401.
- Chen W, Fu X, Ge S, Sun T, Sheng Z. Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue-derived inhibitors of metalloproteinase in fetal and adult skins. *Int J Biochem and Cell Biology*. 2007; 39(5):997–1005.
- McCallion RL, Ferguson MWJ, Clark RAF. Fetal wound healing and the development of anti-scarring therapies for adult wound healing in *The Molecular and Cellular*

- Biology of Wound Repair. 2nd ed., Ed Clarke RAF. New York: Plenum Press; 1996–600 p.
26. Cass DL, Bullard KM, Sylvester KG, Yang EY, Sheppard D, Herlyn M, Adzick NS. Epidermal integrin expression is upregulated rapidly in human fetal wound repair. *J Pediatric Surgery*. 1998; 33(2):312–6.
  27. Lin C-H, Waters JM, Powell BC, Arkell RM, Cowin AJ. Decreased expression of Flightless I, a gelsolin family member and developmental regulator, in early-gestation fetal wounds improves healing. *Mammalian Genome*. 2011; 22(5–6):341–52.
  28. Namazi MR, Fallahzadeh MK, Schwartz RA. Strategies for prevention of scars: what can we learn from fetal skin? *Int J Dermatol*. 2011; 50(1):85–93.
  29. Singer AF, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999; 341:738–46.
  30. Jennings RW, Adzick NS, Longaker MT, et al. Ontogeny of fetal sheep polymorphonuclear leukocyte phagocytosis. *J Pediatr Surg*. 1991; 26:853–5.
  31. Clark RAF. *Wound Repair Overview and General Considerations*. New York: Plenum Press; 1996–400 p.
  32. Lorenz HP, Adzick NS. Scarless skin wound repair in the fetus. *West J Med*. 1993; 159:350–5.
  33. Ellis IR, Schor SL. Differential effects of TGF- $\beta$ 1 on hyaluronan synthesis by fetal and adult skin fibroblasts: Implications for cell migration and wound healing. *Exp Cell Res*. 1996; 228:326–33.
  34. Estes JM, Vandenberg J, Adzick NS, et al. Phenotypic and functional features of myofibroblasts in sheep fetal wounds. *Differentiation*. 1994; 56:173–81.
  35. Wu KK. Cyclooxygenase 2 induction: molecular mechanism and pathophysiologic roles. *J Lab Clin Med*. 1996; 128:242–5.
  36. Li HS, Hebda PA, Kelly LA, Ehrlich GD, Whitcomb DC, Dohar JE: Up-regulation of prostaglandin EP4 receptor messenger RNA in fetal rabbit skin wound. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000; 126:1337–43.
  37. Liechty KW, Adzick NS, Crombleholme TM. Diminished interleukin 6 (IL-6) production during scarless human fetal wound repair. *Cytokine*. 2000; 12:671–6.
  38. Liechty KW, Kim HB, Adzick NS, Crombleholme TM. Fetal wound repair results in scar formation in interleukin-10 deficient mice in a syngeneic murine model of scarless fetal wound repair. *J Pediatr Surg*. 2000; 35:866–72.
  39. Yoshimura A., Wakabayashi Yu, Mori T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF- $\beta$ . *J Biochem*. 2010; 147(6):781–92.
  40. Klass BR, Grobelaar AO, Rolfe KJ. Transforming growth factor beta 1 signalling, wound healing and epiair: a multifunctional cytokine with clinical implications for wound repair, a delicate balance. *Postgrad Med J*. 2009; 85:9–14.
  41. Shi-Wen X, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis. *Cytokine Growth factor Rev*. 2008; 19:133–44.
  42. Pan D, Zhe X, Jakkaraju S, Taylot GA, Schuger L. P311 induces a TGF- $\beta$ -independent, nonfibrogenic myofibroblasts phenotype. *J Clin Invest*. 2002; 110:1349–58.
  43. Cowin AJ, Holmes TM, Brosnan P, Ferguson MW. Expression of TGF- $\beta$  and its receptors in murine fetal and adult dermal wounds. *Eur J Dermatol*. 2001; 11:424–31.
  44. Soo C, Beanes SR, Hu FY, Zhang X, Dang C, Chang G, Wang Y, Nishimura I, Freymiller E, Longaker MT, Lorenz HP, Ting K: Ontogenetic transition in fetal wound transforming growth factor- $\beta$  regulation correlates with collagen organization. *Am J Pathol*. 2003; 163:2459–76.
  45. Schneider JC, Holvanahalli R, Helm P, Goldstein R, Kowalske K. Contractures in burn injury: defining the problem. *J Burn Care Res*. 2006; 27:508–14.
  46. Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. Neutralizing antibody to TGF- $\beta$  reduces cutaneous scarring in adult rodents. *J Cell Sci*. 1994; 107:1137–57.
  47. Hsu M, Peled ZM, Chin GS, Liu W, Longaker MT. Ontogeny of expression of transforming growth factor- $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1), TGF- $\beta$  3, and TGF- $\beta$  receptors I and II in fetal rat fibroblasts and skin. *Plast Reconstr Surg*. 2001; 107:1787–94.
  48. Ferguson MW, Duncan J, Bond J, Bush J, Durani P, So K, Taylor L, Chantrey J, Mason T, James G, Lavery H, Occleston NL, Sattar A, Ludlow A, O’Kane S. Prophylactic administration of avotermin for improvement of skin scarring: three double-blind, placebo controlled , phase I/II studies. *Lancet*. 2009; 373:1264–74.
  49. Pratsinis H, Giannouli CC, Zervolea I, Psarras S, Stathakos D, Kletsas D. Differential proliferative response of fetal and adult human skin fibroblasts to transforming growth factor- $\beta$ . *Wound Repair and Regen*. 2004; 12(3):374–83.
  50. Wilgus TA, Bergdall VK, Dipietro LA, Oberyszyn TM. Hydrogen peroxide disrupts scarless fetal wound repair. *Wound Repair and Regen*. 2005; 13(5):513–19.
  51. Chin GS, Kim WJ, Lee TY, Liu W, Saadeh PB, Lee S, Levinson H, Gittes GK, Longaker MT. Differential expression of receptor tyrosine kinases and Shc in fetal and adult rat fibroblasts: toward defining scarless versus scarring fibroblast phenotypes. *Plast Reconstr Surg*. 2000; 105(3):972–9.
  52. Hashimoto A, Kurosaki M, Gotoh N, Shibuya M, Kurosaki T. Shc regulates epidermal growth factor-induced activation of the JNK signaling pathway. *J Biol Chem*. 1999; 274(29):20139–43.
  53. Colwell AS, Longaker MT, Lorenz HP. Identification of differentially regulated genes in fetal wounds during regenerative repair. *Wound Repair Regen*. 2008; 16:450.
  54. Cheng J, Yu H, Deng S, Shen G. MicroRNA profiling in mid- and late-gestational fetal skin: implication for scarless wound healing. *The Tohoku J Exp. Med*. 2010; 221(3):203–9.
  55. Carter R, Sykes V, Lanning D. Scarless fetal mouse wound

- healing may initiate apoptosis through caspase 7 and cleavage of PARP. *J Surg. Res.* 2009; 156(1):74–9.
56. Wei YJ, Yan XQ, Ma L, Wu JG, Zhang H, Qin LP. Oleanolic acid inhibits hypertrophic scarring in the rabbit ear model. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36: 528–33.
  57. Pastar I, Stojadinovic O, Krzyzanowska A, Barrientos S, Stuelten C, Zimmerman K, Blumenberg M, Brem H, Tomic-Canic M. Attenuation of the transforming growth factor beta-signaling pathway in chronic venous ulcers. *Mol Med.* 2010; 16: 92–101.
  58. Zhang Y, McCormick L, Gilliam A. Latency associated peptide prevents skin fibrosis in murine sclerodermatous graft-versus host disease, a model for human scleroderma. *J Invest Dermatol.* 2003; 121:713–19.
  59. Marquez-Aquirre A, Sandoval-Rodriguez A, Gonzalez-Cuevas J, Bueno-Topete M, NavarroPartida J, Arellano-Olivera I, Lucano-Laneros S, Armendariz-Borunda J. Adenoviral delivery of dominant negative transforming growth factor beta type II receptor up-regulates transcriptional repressor SKI-like oncogene, decreases matrix metalloproteinase 2 in hepatic stellate cell and prevents liver fibrosis in rats. *J Gene Med.* 2009; 11:207–19.
  60. Ahn JY, Park S, Yun YS, Song JY. Inhibition of type III TGF- $\beta$ - receptor aggravates lung fibrotic response. *Biomed Pharmacother.* 2010; 64:472–76.
  61. Ferguson MW, Duncan J, Bond J, Bush J, Durani P, So K, Taylor L, Chantrey J, Mason T, James G, Laverty H, Occleston NL, Sattar A, Ludlow A, O’Kane S. Prophylactic administration of avotermin for improvement of skin scarring: three double-blind, placebo controlled , phase I/II studies. *Lancet.* 2009; 373:1264–74.
  62. Ehrlich HP, Kelley SF. Hypertrophic Scar: An interruption in the remodelling of repair- a laser Doppler blood flow study. *Plast Reconstr Surg.* 1992; 90:993–8.
  63. Reish RG, Eriksson E. Scars: a review of emerging and currently available therapies. *Plast Reconstr Surg.* 2008; 122:1068–78.
  64. Agar N, Young AR. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage? *Mutation Res.* 2005; 571:121–32.
  65. El-Obeid A, Al-Harbi S, Al-Jomah N, Hassib A. Herbal melanin modulates tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production. *Phytomedicine.* 2006; 13: 324–33.
  66. Golyshkin DV, Falaleeva TM, Neporada KS, Bereгова TV. Effect of melanin on the condition of gastric mucosa and reaction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under acute stress. *Physiol Zh.* 2015; 61(2):65–72.
  67. Taburets OV, Morgaienko OO, Kondratiuk TO, Bereгова TV, Ostapchenko LI. The Effect of «Melanin-Gel» on the Wound Healing. *Res J Pharmaceut Biol and Chem Sci.* 2016; 7(3):2031–8.
  68. Dranitsina AS, Taburets OV, Dvorshchenko KO, Grebinyk DM, Bereгова TV, Ostapchenko LI. TGFB 1, PTGS 2 Genes Expression during Dynamics of Wound Healing and with the Treatment of Melanin. *Res J Pharmaceut Biol and Chem Sci.* 2017; 8(1):2014–2023.
  69. Gao Fu-Lei, Jin Rong, Zhang Lu, Zhang Yu-Guang. The contribution of melanocytes to pathological scar formation during wound healing. *Int J Clin Exp Med.* 2013; 6(7):609–13.
  70. Cui Y, Wang XL, Xue J, Liu JY, Xie ML. Chrysanthemum morifolium extract attenuates high-fat milk-induced fatty liver through peroxisome proliferator-activated receptor alpha-mediated. *Nutr Res.* 2014; 34(3):268–75.

*Матеріал надійшов  
до редакції 15.12.2016*