

УДК 57.085.23

ГИПОКСИЯ И HIF-ЗАВИСИМЫЙ КАСКАД В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ В ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТАХ

© 2023 г. К. А. Дариенко^{1,*}, А. А. Пантелеев^{1,**}

¹Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

*E-mail: darcrystal@gmail.com

**E-mail: a.a.pantel@gmail.com; Panteleev_AA@nrcki.ru

Поступила в редакцию 10.10.2023 г.

После доработки 10.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Разработка новых подходов к лечению кожных ран и ожогов остается актуальной задачей современной биомедицины. Одним из перспективных направлений в этой области является использование алло- и аутологичных дермальных фибробластов человека, культивируемых перед их трансплантацией в условиях гипоксии (низкого парциального давления кислорода). Фибробласты являются основными клетками, участвующими в формировании внеклеточного матрикса дермального слоя кожи, функциональность которого нарушается при повреждении. В обзоре кратко описаны различные популяции фибробластов кожи и их функции, основные этапы ранозаживления и роль фибробластов в этом процессе, а также физиологическая роль гипоксии и ее влияние на ранозаживляющие функции фибробластов. Особое внимание уделено регуляторному HIF1-зависимому молекулярному каскаду, являющемуся ключевым элементом клеточной адаптации к гипоксии, а также механизму HIF1-опосредованной регуляции генов, принимающих участие в ранозаживлении.

DOI: 10.56304/S2782375X23010035

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение

1. Структура кожных покровов
2. Гетерогенность популяций фибробластов дермы
3. Фибробласты – основные участники процесса ранозаживления
4. Фибробласты в тканевой инженерии
5. HIF-1-фактор как регулятор клеточной адаптации к условиям гипоксии
6. Гипоксия и HIF-1 в контроле функций фибробластов

Заключение

ВВЕДЕНИЕ

Кожа – это крупнейший орган человеческого тела, составляющий до 15% от общей массы тела взрослого человека и являющийся барьером между внутренней и внешней средой, обеспечивающим защиту от экзогенных механических, физических, химических и биологических воздействий [1, 2]. Функциональное значение кожи не переоценимо, особенно учитывая, что разнообразные факторы внешней среды воздействуют на организм постоянно, вызывая соответствующие

адаптивные реакции. Именно в коже, подвергающейся непосредственному воздействию этих факторов, происходит первичный иммунный ответ [3]. Повреждение целостности кожного покрова и формирование раны приводят к нарушению трофики из-за повреждения сосудов, развитию воспалительной реакции и к последующей активации ранозаживляющего потенциала неповрежденных структур кожи с дальнейшим восстановлением целостности и функциональности ткани.

Известен ряд заболеваний, при которых регенеративный потенциал кожи значительно снижен. В результате возникающие раны и дефекты не только не способны к естественному восстановлению, но и трудно поддаются различным медицинским воздействиям. Это часто приводит к развитию хронических ран/язв, некрозу ткани и необходимости хирургического вмешательства. Например, одним из самых распространенных осложнений у пациентов с диабетом 2 типа является диабетическая язва стопы. Этот синдром (синдром диабетической стопы – СДС) развивается примерно у 5–10% пациентов-диабетиков чаще всего при длительном стаже заболевания [4, 5]. СДС также может проявляться при диабете 1 типа. У 2–16% пациентов с СДС осложнения заболевания приводят к ампутации стопы [4, 6]. Согласно [7] от 50 до 70% всех ампутаций нижних

конечностей приходится на долю больных сахарным диабетом.

Трофической язвой (длительно незаживающей раной) называют дефект тканей со значительно сниженной способностью к заживлению из-за нарушения трофики и иннервации кожи и подлежащих тканей [8]. Патогенез трофических язв сводится к формированию так называемой “фибриновой манжетки” вокруг капилляров кожи, что вызывает аноксию тканей (полное отсутствие кислородного питания) и, соответственно, развитие и прогрессирование трофических патологий. Традиционными способами лечения подобных заболеваний являются средства местного воздействия на поверхность раны [9], а также средства системной фармакотерапии, направленной в основном на коррекцию свертывающей способности крови, достижение сосудорасширяющего действия и на улучшение доставки O_2 в раневое поле для устранения местной гипоксии (дефицита O_2) [10].

Ранозаживление является сложным, комплексным процессом. В зависимости от его длительности рана (язва) приобретает острый или хронический характер [11]. С начала 1960-х гг. в связи с резким ростом количества случаев диабета постоянно растет интерес к разработке новых подходов к лечению хронических диабетических язв [12–14]. В частности, используются принципы биоинженерии и клеточной терапии для создания клеточных и тканевых трансплантатов, которые, временно замещая утраченные ткани, восстанавливают нормальную функцию поврежденных структур и поддерживают их архитектуру. В настоящее время одним из распространенных подходов является использование для трансплантации тканеинженерных эквивалентов кожи на основе пористых трехмерных структур из материалов искусственного и природного происхождения (скаффолдов/матриц), используемых в качестве клеточных носителей [15, 16]. Обязательное условие успешного использования подобных матриц — их способность обеспечивать механическую и структурную поддержку искусственной ткани, а также клеточную адгезию и пролиферацию. В итоге это стимулирует процесс регенерации.

Одним из способов повышения эффективности этого подхода является использование клеток с повышенным синтезом факторов ранозаживления. В данном обзоре рассматривается возможность использования гипоксии и активируемых ею молекулярных каскадов для повышения ранозаживляющего потенциала дермальных фибробластов.

1. СТРУКТУРА КОЖНЫХ ПОКРОВОВ

С гистологической точки зрения кожа состоит из трех слоев: эпидермиса, дермы и гиподермы [17].

Морфофункциональное формирование кожи млекопитающих в процессе онтогенеза начинается после гаструляции (одной из самых ранних стадий эмбрионального развития) на 6–9-й день развития эмбриона мыши (стадии E6.5–E9.5) из эктодермального зародышевого листка. До стадии E12.5 мышинный эпителий состоит из одного или двух слоев кератиноцитов, а подлежащая дерма выглядит гомогенной по составу. Мультипотентные рб3-позитивные кератиноциты формируют базальный слой эмбрионального эпидермиса, дающий начало всем вышележащим стратифицирующимся слоям и всем придаткам кожи, таким как волосяные фолликулы и разнообразные железы. К E17.5 эпидермис полностью сформирован и приобретает свои барьерные свойства. Мезодермальный зародышевый листок эмбриона дает начало формированию соединительной ткани верхней (папиллярной, сосочковой) части дермы с более высокой плотностью фибробластов и нижней ее части (ретикулярной, сетчатой) с низкой плотностью клеток, но высокой плотностью **ЕСМ** (*extracellular matrix*, внеклеточного матрикса). Сразу после рождения мыши (P2) в коже формируется гиподерма (подкожная жировая клетчатка), состоящая из преадипоцитов и дифференцированных адипоцитов [18, 19].

Сформированный эпидермис млекопитающих представляет собой многослойный эпителий, образованный клетками, расположенными восходящими слоями от базальной мембраны к поверхности кожи [20]. Самый глубокий слой — базальный (*stratum basale*) — отделен от дермы базальной мембраной и прикреплен к ней полудесмосомами. Кератиноциты этого слоя могут иметь разную форму, от кубической до столбчатой. Они являются митотически активными, и их дочерние клетки формируют все вышележащие слои эпидермиса [21]. Кератиноциты супрабазальных слоев дифференцируются в процессе движения к поверхности кожи, формируя сначала шиповатый слой (*stratum spinosum*), а затем гранулярный слой (*stratum granulosum*). Гранулярный слой характеризуется активным накоплением в специфических гранулах различных компонентов (белки и липиды), необходимых для процесса корнификации кератиноцитов и формирования рогового слоя эпидермиса. Над гранулярным слоем может располагаться блестящий слой (*stratum lucidum*), имеющий вид тонкого прозрачного слоя, состоящего из элаидина. Однако он наблюдается только в толстой коже ступней и ладоней. Верхний ороговевший слой клеток эпидермиса (*stratum corneum*) более водонепроницаем, чем нижележащие слои, препятствует как потере вла-

ги, так и проникновению через кожу патогенов и других посторонних веществ, обеспечивая таким образом барьерные свойства эпидермиса [22].

Среди эпителиальных клеток эпидермиса – кератиноцитов – располагаются и неэпителиальные клетки, такие как меланоциты, клетки Лангерганса, Т-лимфоциты и клетки Меркеля [23]. Меланоциты – клетки нейрального происхождения, образующиеся из нервной трубки и нервного гребня эмбриона [24]. В коже человека меланоциты располагаются в базальном слое эпидермиса и продуцируют пигмент меланин, который защищает делящиеся кератиноциты от УФ-излучения [25, 26]. В коже мышей эпидермальные меланоциты мигрируют в волосяной фолликул в первые дни после рождения и в эпидермисе их не остается. Клетки Лангерганса (дендритные клетки, эпидермальные макрофаги) являются частью иммунной системы кожи млекопитающих [3, 27]. Они представляют собой антигенпрезентирующие клетки костномозгового происхождения, которые локализуются в базальном или шиповатом слоях эпидермиса. Клетки Лангерганса захватывают антигены, проникающие в эпидермис, осуществляют их процессинг и передают соответствующую информацию лимфоцитам, контролируя таким образом адаптивный иммунный ответ [3, 28, 29]. Еще один вид эпидермальных клеток – тактильные клетки Меркеля, имеющие нейральное происхождение. Они связываются с афферентными нервными волокнами и выполняют функцию механорецепторов. Тела тактильных клеток расположены в базальном слое эпидермиса, при этом своими отростками они соединяются с кератиноцитами базального и шиповатого слоев с помощью десмосом [30].

Дерма является самым толстым из трех слоев кожи и представляет собой опорную соединительную ткань, имеющую специфическую архитектуру и состоящую в основном из фибробластов и некоторых других типов клеток, а также ЕСМ (коллагеновые, эластические, ретикулярные волокна и аморфное вещество). В дерме располагаются волосяные фолликулы, потовые и сальные железы, кровеносные сосуды и нервные окончания [31]. Сосочковый (верхний) слой дермы образован рыхлой волокнистой соединительной тканью с лимфатическими и кровеносными капиллярами, нервными волокнами и окончаниями. Плотность клеток в сосочковом слое (фибробласты, тучные клетки, макрофаги, лейкоциты, пигментные клетки) значительно ниже, чем в эпидермисе. Характеризуется он и сравнительно небольшим количеством ЕСМ (коллагеновые, эластические и ретикулярные волокна). Сетчатый (нижний) слой дермы образован плотной волокнистой соединительной тканью, характеризуется пучковым расположением коллагеновых волокон, выполняющих опорную функцию [32–

34]. Для сетчатого слоя характерна еще менее плотная клеточная составляющая, чем для сосочкового слоя, а большую часть его объема занимает ЕСМ, играющий основную роль в структурной организации дермального слоя и поддержании его архитектоники. ЕСМ является неклеточным компонентом дермы, секретируется фибробластами и представляет собой постоянно обновляющийся комплекс фибриллярных белков, гликопротеинов и протеогликанов, имеющий различный состав в зависимости от локализации ткани и окружающих ее физиологических условий [35]. Механическую прочность дермы обеспечивает Col I (коллаген I типа), находящийся преимущественно в сетчатом слое. Col VII характерен для базального слоя эпидермиса, обеспечивает его прочную связь с соединительной тканью дермального слоя кожи посредством базальной мембраны [36]. Существует мнение, что формирование коллагеновых волокон стимулируется декорином и фибромодулином [37]. Эластичность и упругость дермы обеспечивают эластиновые волокна, обладающие хорошей способностью к растяжению. Эти свойства эластиновых волокон определяются белками эластином и фибриллинном, входящими в их состав [38].

В настоящее время накоплен значительный объем данных о взаимодействии клеток эпидермиса и дермы (кератиноцитов и фибробластов). Известно, что в нормальной и поврежденной коже кератиноциты секретируют факторы роста, которые стимулируют процесс выработки компонентов ЕСМ фибробластами, и, наоборот, фибробласты продуцируют факторы пролиферации и миграции для кератиноцитов, которые важны при эпителизации ран [39]. VEGF (*vascular endothelial growth factor*), эндотелиальный фактор роста сосудов, продуцируемый кератиноцитами, способствует образованию в верхних слоях дермы новых сосудов (ангиогенез). Пролиферирующие кератиноциты реагируют на факторы роста, секретируемые фибробластами, такие как KGF (кератиноцитарный фактор роста), контролирующей миграцию и пролиферацию кератиноцитов, EGF (эпидермальный фактор роста), стимулирующий пролиферацию, а также FGF (фактор роста фибробластов), участвующий в развитии кожи плода и контролирующей пролиферацию и миграцию клеток. FGF2 оказывает влияние на активацию экспрессии кератинов K6, K16 и K17, участвующих в осуществлении процесса миграции кератиноцитов [18, 34]. Известно, что провоспалительные цитокины IL-1 (интерлейкин), IL-6 и TNF- α , продуцируемые кератиноцитами, стимулируют миграцию кератиноцитов и фибробластов в раневое поле и активируют секрецию фибробластами FGF, повышающего и стимулирующего синтез компонентов ЕСМ и придающего кератиноцитам повышенную подвижность в

процессе реэпителизации. Противовоспалительный цитокин **TGF- β** (трансформирующий фактор роста бета), продуцируемый как кератиноцитами, так и фибробластами, стимулирует образование при ранении грануляционной ткани, контролирует феномен трансформации фибробластов в миофибробласты (см. ниже) и регулирует обратный переход дифференцирующихся кератиноцитов к базально-клеточному фенотипу (де-дифференцировка) со специфичными для базальных клеток маркерами K5 и K14 [40]. Также обнаружено, что мигрирующие по краям раны кератиноциты активно экспрессируют **MMP** (металлопротеиназы), ферменты, разлагающие ЕСМ, что позволяет этим клеткам мигрировать через фибриновую пробку и повернуть грануляционную ткань [41].

Клетки разных слоев кожи находятся в тесной взаимосвязи между собой и функционируют как единое целое, взаимно секретируя факторы роста и взаимно стимулируя дифференцировку, пролиферацию, миграцию, синтез структурных белков ЕСМ и в целом определяя регенераторный потенциал кожи через ауто- и паракринные механизмы. В силу этого полноценное восстановление целостности кожных покровов после ранения не может происходить при участии лишь одного типа клеток, а вовлекает в процесс ранозаживления клетки всех типов и всех слоев кожи, что приводит к качественному обновлению структуры и восстановлению целостности ткани.

2. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ДЕРМЫ

Фибробласты являются основными и самыми многочисленными клетками в составе дермы [31]. Помимо дермы фибробласты присутствуют в других тканях, со специфичными для конкретной популяции маркерами и для конкретной ткани функциями. Поскольку существуют значительные различия в строении дермы на разных участках тела млекопитающих, локальные субпопуляции дермальных фибробластов также имеют свои индивидуальные особенности. В процессе эмбрионального развития фибробласты происходят из разных анатомических зон эмбриона, включая нервный гребень, мезодерму латеральной пластинки и дерматомиотом [42].

Дермальные фибробласты происходят в основном из недифференцированных мультипотентных мезенхимальных клеток-предшественников [43]. Под влиянием различных факторов роста и цитокинов, высвобождаемых из макрофагов, тромбоцитов крови и нейтрофилов на 12.5-й день эмбрионального развития мыши (E12.5), мезенхимные клетки-предшественники трансформируются в клетки-предшественники фибробластов, из которых, в свою очередь, к стадии E16.5 формируются две линии зрелых фиб-

робластов: 1) папиллярные дермальные фибробласты (**PF**, *papillary fibroblasts*) и фибробласты волосяного фолликула (**HFF**, *hair follicle fibroblasts*), а также 2) фибробласты ретикулярной (**RF**, *reticular fibroblasts*) и гиподермальной (**HDF**, *hypodermal fibroblasts*) популяций [34, 44].

Было установлено, что мультипотентная мезенхимальная популяция предшественников дермальных фибробластов экспрессирует **PDGFR α** (рецептор тромбоцитарного фактора роста альфа), **DLK1** (дельта-подобный гомолог 1) и **Lrig1** (богатый лейциновыми повторами и иммуноглобулиноподобный домен 1), являющиеся маркерами клеток всех слоев дермы. Начиная с E16.5 и до второго постнатального дня развития мыши PF, HFF, RF и HDF окончательно дифференцируются по маркерам **CD26** (или **DPP4**, дипептидилпептидаза-4), **Sca1** (антиген 1 стволовых клеток), **Blimp1** (индуцирующий созревание В-лимфоцитов белок 1). При этом CD26 и Blimp1 селективно экспрессируются в фибробластах верхнего слоя дермы (PF и HFF), тогда как Sca1 – в линиях RF и HDF нижнего слоя дермы [19, 45].

Зрелые дермальные фибробласты участвуют в поддержании тканевой структуры дермы и в непрерывном обновлении ЕСМ, поддерживая его структурный и химический гомеостаз [46]. На пролиферативную активность фибробластов оказывают влияние различные цитокины и медиаторы, в частности IL-1 α , IL-1 β и IL-8 [47]. Фибробласты дермы связываются с неповрежденными коллагеновыми фибриллами через рецепторы интегринов, расположенные на клеточной мембране [48].

PF обладают более высокой ферментативной активностью по сравнению с RF, тогда как RF опосредуют процессы заживления ран и экспрессируют маркеры активации фибробластов, такие как **α SMA** (α -гладкомышечный актин). Популяции PF и RF имеют различные паттерны секреции белков ЕСМ, а также факторов роста и цитокинов, необходимых для паракринных перекрестных взаимодействий с кератиноцитами [32]. Ранее считалось, что PF незначительно вовлечены в синтез ЕСМ, однако позже было показано, что дермальные эквиваленты на основе PF обеспечивали большую жизнеспособность культивированных на них кератиноцитов, а также способствовали формированию более стратифицированного и дифференцированного эпидермиса, чем эквиваленты на основе RF. В культуре PF имеют веретенообразную морфологию, а RF – звездчатую форму [49]. Влияние RF на кератиноциты обусловлено повышенным синтезом KGF и сниженным уровнем **GM-CSF** (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) по сравнению с PF. В процессе длительного

культивирования и старения клеток PF приобретают ретикулярный фенотип и морфологию [50].

В свою очередь, HFF представлены двумя субпопуляциями клеток: фибробластами дермальной папиллы волосяного фолликула (**DP**, *hair follicle dermal papilla*), играющими центральную роль в развитии волос и в координации цикла волосяного фолликула, и фибробластами дермальной соединительнотканной оболочки (**DS**, *dermal sheath*), инкапсулирующими эпителиальные компоненты волосяного фолликула [42]. Фибробласты DP и DS отличаются от других дермальных фибробластов высоким уровнем экспрессии неспецифической щелочной фосфатазы, α SMA и **PAR-1** (активируемого протеазой рецептора-1) [34].

Таким образом, дермальные фибробласты представляют собой гетерогенную популяцию клеток, представленную значительным числом субпопуляций, обладающих функциональными различиями. Специфичность этих популяций определяется главным образом их расположением в разных участках дермы. Функциональные различия между ними определяются экспрессией специфических компонентов ЕСМ и различных маркеров, причем эти различия проявляются как *in vivo*, так и *in vitro*. Гетерогенность субпопуляций фибробластов имеет определяющее значение в поддержании тканевой структуры дермы, а также в репарационных процессах, имеющих место при ранозаживлении.

3. ФИБРОБЛАСТЫ – ОСНОВНЫЕ УЧАСТНИКИ ПРОЦЕССА РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ

Фибробласты участвуют в поддержании гомеостаза в дерме, так как не только контролируют состав и структуру ЕСМ, но и вырабатывают цитокины, факторы роста и ферменты, в том числе участвующие в синтезе и депонировании коллагена [51, 52]. Помимо создания оптимальных условий для пролиферации и жизнедеятельности других типов клеток (эндотелиальных, эпителиальных, клеток волосяных фолликулов) фибробласты координируют их функции [53].

Повреждение кожного покрова активизирует сложные адаптивные механизмы, направленные на восстановление целостности и функциональности ткани. Заживление раны представляет собой ряд последовательных стадий, которые сопровождаются такими важными процессами, как фагоцитоз, хемотаксис, апоптоз, рост и развитие сосудов, синтез белков и других компонентов ЕСМ, пролиферация и дифференцировка клеток, а также их миграция в зону повреждения.

Процесс заживления острых ран может быть разделен на четыре основные фазы: гемостаз, воспаление (раннее и позднее), фаза клеточной

пролиферации и фаза ремоделирования ткани [42]. Фибробласты принимают активное участие на всех этих этапах, играя ключевую роль в выработке и ремоделировании нового ЕСМ, а также стягивания краев раны за счет их трансформации в миофибробласты [54, 55].

Фаза гемостаза и последующая фаза воспаления длятся от одного до трех дней, в течение которых в раневом поле резко возрастает количество клеток (инфильтрат) благодаря миграции и пролиферации фибробластов, эндотелиальных клеток, форменных элементов крови, а также кератиноцитов, осуществляющих эпителизацию раны. Сразу после нарушения целостности кожи и сосудов происходят агрегация тромбоцитов и образование фибринового сгустка (состоящего из фибрина и фибронектина), что вызывает остановку кровотечения (гемостаз) [56], которой также способствует вазоконстрикция сосудов. Тромбоциты высвобождают хемокины, участвующие в рекрутировании воспалительных клеток (нейтрофилов, и макрофагов), фибробластов и эндотелиальных клеток, помимо этого, выделяют медиаторы (такие как серотонин и гистамин), увеличивающие проницаемость клеток, а также тромбоцитарный фактор роста, который наряду с трансформирующим фактором роста стимулирует пролиферацию фибробластов, синтезирующих коллаген. Воспалительные клетки, в свою очередь, высвобождают различные медиаторы и цитокины, способствуя ангиогенезу, тромбозу и реэпителизации, обеспечивают фагоцитоз клеточного дебриса и бактерий, обеспечивая таким образом обеззараживание раны. Все указанные процессы высоко синхронизированы во времени [44, 55, 57].

Также известно, что в случае хронических ран увеличение провоспалительного клеточного инфильтрата (состоящего в основном из нейтрофилов и макрофагов) является одним из факторов задержки процесса ранозаживления. При этом повышение уровня нескольких ключевых провоспалительных цитокинов, таких как IL-1b и **TNF α** (фактор некроза опухоли альфа), приводит к повышению уровня MMP, нарушая таким образом миграцию клеток, продлевая воспалительную фазу и задерживая заживление раны [58].

После третьей стадии (клеточной пролиферации) следует последняя фаза ранозаживления – ремоделирование, в процессе которой происходят морфологические изменения фибробластов. Ростовые факторы и хемоаттрактанты (IGF-1, bFGF, TGF- β , PDGF, EGF) стимулируют как пролиферацию и миграцию фибробластов в область раны из прилегающих участков дермы в течение 48–72 ч с момента повреждения [15], так и феномен трансформации фибробластов в миофибробласты [35, 44, 59, 60], которые становятся самой многочисленной популяцией клеток в гра-

нуляционной ткани. Миофибробласты, как и фибробласты, являются продуцентами ЕСМ в поврежденной ткани, но основная их роль заключается в уменьшении размера раны за счет приобретаемой ими способности к контракции [58, 61]. Отличительной чертой миофибробластного фенотипа является экспрессия α SMA, характерного для гладкомышечных и миоэпителиальных клеток эндотелия сосудов, который придает клеткам способность сокращаться [57, 62, 63]. Наиболее важными стимулами к трансформации в миофибробласты являются механическое напряжение [64] и активность TGF- β [65–68]. Провоспалительный медиатор IL-1 активирует синтез фибробластами ростовых факторов, важнейшим из которых является TGF- β , инициирующий сократительную активность, в результате чего в зоне воспаления начинает расти механическое напряжение [69]. В начальной стадии заживления, NF κ B, присутствующий в фибробластах, блокирует передачу сигналов TGF- β . На этой стадии образуются протомиофибробласты, не экспрессирующие α SMA. Постепенно активность NF κ B в фибробластах снижается, повышается экспрессия TGF- β -зависимых генов, а взаимодействие ET-1 и TGF- β индуцирует экспрессию α SMA и окончательную трансформацию клеток в миофибробласты [70]. Помимо α SMA миофибробласты экспрессируют N-кадгерин в отличие от кадгерин-отрицательных фибробластов. N-кадгерин – белок трансмембранной межклеточной адгезии, связанный с внутриклеточным актиновым цитоскелетом. В процессе ранозаживления N-кадгерин замещается на OB-кадгерин (кадгерин-11), который играет роль в координации сокращения миофибробластов [71]. Известно, что FGF2 ингибирует TGF- β -опосредованную трансформацию фибробластов в миофибробласты [72].

Тканевые фибробласты и миофибробласты играют ключевую роль в секреции различных ростовых факторов и структурных белков, поддерживающих функциональную целостность ЕСМ [62, 73]. Среди них проколлаген (Col I и Col III), эластин, многодоменные адгезивные гликопротеины (фибронектин, витронектин, ламинин), гликозаминогликаны (гиалуроновая кислота, гиалуронан, хондроитинсульфат, гепарансульфат), а также протеогликаны (версикан, синдеканы, глипиканы и перлекан).

Фибробласты также секретируют многочисленные ростовые факторы и клеточные белки: тромбоспондин 1 (TSP1) и 2 (TSP2), тенасцин С, остеоопонтин [74–76]. Не менее важными белками являются также синтезируемые фибробластами коллаген-пролилгидроксилазы (P4ha1 и P4ha2) и коллаген-лизилгидроксилаза (Plod2), способствующие синтезу коллагена и осуществляющие его посттрансляционные модификации в процессе ремоделирования ЕСМ [77, 78]. PDGF, секре-

тируемый фибробластами, помимо стимуляции пролиферации этих клеток увеличивает экспрессию ими коллагеназы, а TGF- β регулирует хемотаксис фибробластов, их трансформацию в миофибробласты, а также синтез и накопление компонентов ЕСМ, в основном коллагена [53, 79]. Тенасцин-С и ламинин связываются с рецепторами EGF, усиливая миграцию фибробластов в область повреждения [58, 76]. EGF, в свою очередь, после выделения фибробластами в раневое поле усиливает реэпителизацию (миграцию кератиноцитов) острой раны за счет увеличения уровня экспрессии кератинов K6 и K16, также участвовавших в пролиферации клеток. Уровень bFGF, также синтезируемого фибробластами, возрастает при остром повреждении кожного покрова. FGF способствует формированию грануляционной ткани, улучшает реэпителизацию и ремоделирование раны, контролирует морфогенез, дифференцировку, пролиферацию и миграцию клеток [80, 81]. FGF-2 увеличивает подвижность кератиноцитов, способствует делению фибробластов и эндотелиальных клеток, стимулирует синтез коллагеназ фибробластами и способствует их миграции к зоне повреждения [82, 83].

Фибробласты также принимают активное участие в контроле процесса ангиогенеза [44, 75]. Они активно синтезируют не только VEGF, но и другие важные проангиогенные факторы, среди которых основными являются FGF, TGF- β и HGF (фактор роста гепатоцитов), который стимулирует пролиферацию клеток эндотелия сосудов [74, 84]. Таким образом, фибробласты играют важную роль в росте новых кровеносных капилляров, обеспечивающих питание и поступление кислорода к растущей новой ткани. Вновь образовавшиеся сосуды дают возможность лейкоцитам попадать в область раны для предупреждения проникновения инфекции [56].

Помимо фибробластов в восстановлении нарушенной структуры кожи участвует целый ряд других клеток, включая кератиноциты, осуществляющие восстановление эпидермального слоя (эпителизацию) и формирующие барьер между внутренней и внешней средой, а также эндотелиальные клетки, осуществляющие вместе с фибробластами синтез новых компонентов ЕСМ и белков и принимающие участие в ангиогенезе и реваскуляризации области раны [35, 85].

Фибробласты играют существенную роль и в процессе старения кожных покровов, который связан с изменением структурных и биохимических свойств кожи, а также с изменением профиля экспрессии белков, составляющих основу ЕСМ [36, 86]. Семейство белков MMP и TIMP (тканевых ингибиторов металлопротеиназ), синтезируемых многими клетками, включая фибробласты и макрофаги, участвует в модулировании

компонентов ЕСМ соединительных тканей, в том числе дермы кожи, контролируя постоянное обновление структурных белков. ММР разрушают ЕСМ, тогда как ТИМР ингибируют деградацию матрикса [18]. Кроме того, ММР удаляют продукты денатурации ЕСМ, образующиеся при повреждениях, что свидетельствует о важной роли ММР в процессе заживления ран [87–89]. Этим белкам отведена главная роль в деградации волокон коллагена. Уровень ММР в нормальной неповрежденной коже очень низок. Однако при повреждении кожи и инициации процесса ранозаживления увеличивается синтез ММР-1, ММР-2, ММР-3, ММР-8, ММР-9, ММР-10, ММР-12, ММР-13, ММР-19, ММР-26 и ММР-28, поддерживающих нормальную архитектуру ЕСМ дермы [56].

Заживление значительных по размеру ран кожи взрослого человека обычно сопровождается отложением избыточного ЕСМ, что приводит к проявлениям фиброза и образованию рубца, и в конечном счете к определенной потере функциональности поврежденных покровов. В нормальных физиологических условиях после восстановления целостности ткани миофибробласты подвергаются апоптозу. Однако в области развития фиброза за счет подавления апоптоза и, как следствие, повышения выживаемости миофибробластов повышается внутреннее натяжение в ткани, что приводит к рубцеванию. Недавние исследования показывают, что именно отсутствие воспаления способствует безрубцовому заживлению кожных ран во время внутриутробного развития [69].

В отличие от нормальной кожи рубец (шрам) имеет характерные признаки, включая ненормальную ориентацию коллагеновых волокон, чрезмерный фиброз, исчезновение эластических волокон и придатков кожи, общее нарушение структуры кожи. Нарушение в рубцовой ткани соотношения уровня белков ММР, коллагена I и III, гиалуроновой кислоты и декорина, фибронектина и ламинина, а также фибриллиновых и эластиновых волокон приводит к развитию патологических, а порой и тяжелых форм рубцевания — гипертрофических и келоидных рубцов [56]. Гипертрофические рубцы не выступают за пределы раневого поля, регрессируют в течение 6 мес после формирования и характеризуются быстрым ростом. Для них также характерно присутствие α SMA + миофибробластов и расположенных параллельно поверхности кожи коллагеновых волокон. Келоидные рубцы в отличие от гипертрофических не склонны к самопроизвольному регрессу и разрастаются за пределы площади первоначальной раны, приобретая форму доброкачественного новообразования. Они характеризуются постоянным ростом и толстыми, бессистемно ориентированными пучками коллагеновых волокон [58].

Признаком, характерным для длительно незаживающих (хронических) ран, является их пониженная способность к реэпителизации. Это связывают со сниженной скоростью пролиферации и миграции кератиноцитов, которые регулируются на молекулярном уровне многими факторами, вырабатываемыми фибробластами и макрофагами в раневом поле [8]. СДС у больных диабетом 2 типа характеризуются повышенным уровнем экспрессии фибробластами воспалительных маркеров и матриксных металлопротеиназ, разрушающих необходимый для поддержания целостности ткани коллаген. В результате происходят дезактивация факторов роста и уменьшение количества фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных сосудистых клеток, что приводит к блокировке процесса заживления раны [90]. Показано, что фибробласты, выделенные из хронических язв, возникающих на фоне хронической венозной недостаточности, обладают гораздо более низкой пролиферативной активностью по сравнению с клетками, выделенными из образцов нормально функционирующей кожи [91]. Также было показано, что фибробласты, выделенные из ткани хронической диабетической язвы, развивающейся на фоне хронической венозной недостаточности, обладали более низкой миграционной активностью и подвижностью по сравнению с фибробластами, выделенными из здоровой кожи [92].

Известно, что цитокины, аккумулируемые в большом количестве в раневой жидкости хронических трофических язв кожи, подавляют рост нормальных фибробластов и способствуют их морфологическим изменениям [93]. В хронических ранах нарушены процессы синтеза фибробластами ЕСМ, воспаления и образования грануляционной ткани, что в целом замедляет реэпителизацию раны и ремоделирование поврежденной ткани [94]. Также было показано снижение способности фибробластов, выделенных из хронических ран, к синтезу Col I. Очевидная причина этого — увеличение синтеза и активности тканевых ингибиторов металлопротеиназ и, соответственно, уменьшение уровня экспрессии ММР-1 и ММР-2. Это приводит к накоплению коллагена в клетках и компенсаторному снижению синтеза новых волокон [95]. ММР-ингибиторы блокируют и миграцию кератиноцитов к месту повреждения и тормозят заживление *in vivo* [56]. Исследования, проведенные на фибробластах из хронических диабетических язв, показали значительное усиление экспрессии фибронектина (по сравнению с фибробластами нормальных тканей), а также снижение экспрессии Col I [96].

Таким образом, именно фибробласты обеспечивают кожу необходимыми структурными компонентами, составляющими основу ее архитектони-

ки, и продуцируют основные факторы, контролирующие регенерацию не только дермального слоя кожи, но и эпидермиса, выделяя соответствующие факторы роста и стимулируя восстановление целостности кожных покровов.

4. ФИБРОБЛАСТЫ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Благодаря активному развитию методов тканевой инженерии существует возможность моделировать структуру естественного ЕСМ путем создания искусственных биосовместимых матриц (скаффолдов) различной структуры (гели, губки, нетканые материалы и т.д.) и состава (синтетические и природные полимеры). При использовании соответствующих клеток подобные матрицы могут служить основой тканевых эквивалентов, имитирующих нативные ткани организма, для их применения в качестве трансплантатов в регенеративной медицине. Для терапии кожных ран и ожогов особый интерес представляют дермальные фибробласты, поскольку эти клетки играют ключевую роль в выработке компонентов ЕСМ и регуляции различных аспектов ранозаживления. Использование полимерных матриц с посеянными на них фибробластами способствует восстановлению нормальных функций поврежденных кожных покровов и поддерживает их архитектуру. Полимерный материал помимо осуществления механической и структурной поддержки искусственной ткани обеспечивает условия для нормальной жизнедеятельности клеток — их дифференцировки, пролиферации, миграции, адгезии и других важных функций [97].

Способ лечения дефектов кожи с помощью фибробластов, иммобилизованных на различных полимерных носителях, является эффективным и в то же время безопасным [98, 99]. Важное преимущество фибробластов в клеточной и тканевой трансплантологии — низкая иммуногенность этих клеток, обусловленная отсутствием экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости МНС II класса [34, 100]. Это позволяет использовать для трансплантации не только аутологичные, но и аллогенные фибробласты. Известно, что аутологичные фибробласты на неклеточных носителях более эффективно стимулируют ранозаживление по сравнению с аллогенными [101]. Тем не менее возможность незамедлительного применения заранее подготовленных аллогенных клеток при жизненно опасных повреждениях кожи (например, обширные ожоги) [102] делает их более предпочтительными: быстрая клеточная терапия (сразу после термического поражения или травмы) существенно снижает негативные последствия нарушения функций кожных покровов у пациента.

В 1981 г. Burke и Yannas в целях разработки нового метода лечения ожоговых ран создали искусственный двуслойный аналог кожи, его верхний слой состоял из силиконового аналога эпидермиса (впоследствии заменяемого на ауто-эпидермальный трансплантат), а нижний — из пористого коллаген-хондроитин-6-сульфатного фибриллярного аналога дермы, который вскоре после трансплантации заселялся фибробластами реципиента и прорастал сосудами, обеспечивая таким образом синтез новой соединительнотканной структуры, частично восполняющей функции поврежденной кожи [103]. На основе этой разработки был запатентован продукт Integra®, широко использующийся до сих пор. После внедрения этого продукта создание биоинженерных аналогов кожи различной структуры и сложности получило широкое распространение. В частности, в 2014 г. был разработан двуслойный кожный эквивалент, состоящий из пористого хитозан-альгинатного матрикса с кератиноцитами на его поверхности (для имитации эпидермального слоя), пропитанного термически обработанным хитозан-полиэтиленгликолем гелем с заселенными в него фибробластами (для имитации дермального слоя). При трансплантации такого эквивалента на рану происходило увеличение скорости пролиферации кератиноцитов и фибробластов хозяина, что указывало на способность носителя имитировать микросреду ткани кожи, а ускоренное затягивание краев раны — на выделение фибробластами (эквивалента и хозяина) факторов, способствующих ускорению процесса заживления [104].

Ключевая роль фибробластов в синтезе значительного количества белков, участвующих в ранозаживлении, обуславливает эффективность использования этих клеток в лечении ран, а отсутствие реакции “трансплантат-против-хозяина” — безопасность их применения.

5. HIF-1-ФАКТОР КАК РЕГУЛЯТОР КЛЕТОЧНОЙ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ГИПОКСИИ

Один из перспективных подходов к стимуляции ранозаживления — использование фибробластов, предварительно культивированных в условиях гипоксии, что способствует выделению ими факторов ранозаживления [105, 106].

Центральным механизмом, посредством которого гипоксия регулирует клеточные функции, является HIF1-зависимый молекулярный каскад (*Hypoxia-inducible factor 1-cascade*).

Транскрипционный фактор HIF1 представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц: кислородчувствительного белка Hif1- α и ядерного транслокатора рецептора ароматических углеводородов ARNT (*aryl hydrocarbon recep-*

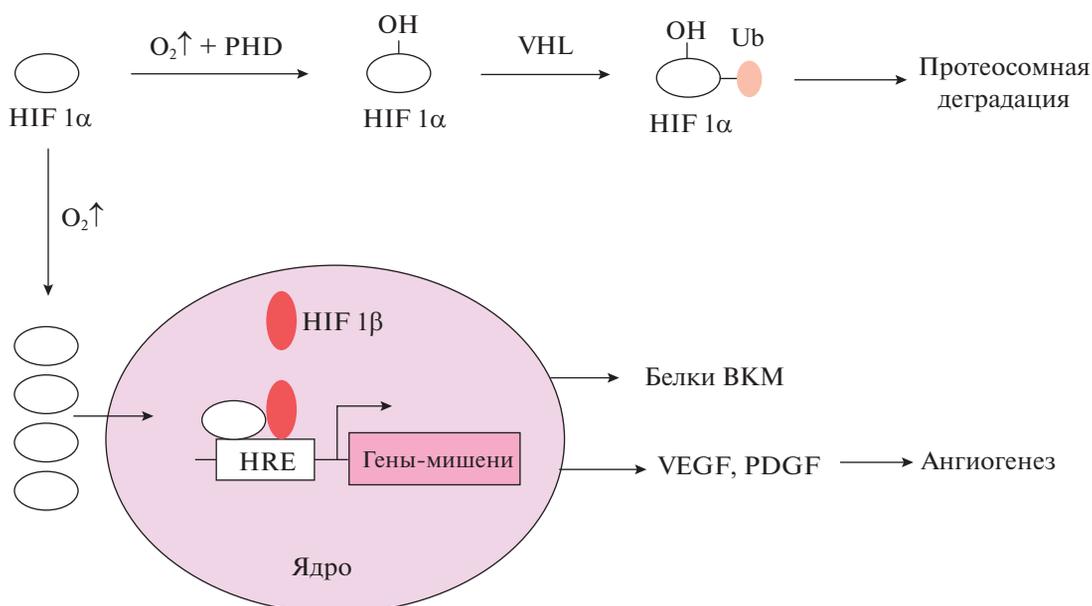


Рис. 1. Схема HIF-каскада. ECM – внеклеточный матрикс, PHD – пролилгидроксилазы, VHL – фон Хиппел-Линдау белок, HRE – чувствительный к гипоксии элемент, VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста, PDGF – тромбоцитарный фактор роста.

tor nuclear translocator), обозначаемого также **Hif1-β**. Димеризация этих двух родственных факторов (принадлежащих к семейству PAS-белков с доменом типа спираль–петля–спираль – *helix–loop–helix*) ведет к трансактивации генов-мишеней путем связывания HIF1 с их специфическими промоторными участками, содержащими **HRE** (*hypoxia-response element*) – чувствительный к гипоксии элемент, представленный последовательностью 5'-RCGTG-3' [107, 108]. В условиях *in vivo* ARNT образует гетеродимеры и с другими PAS-белками, в том числе с AhR и Hif2-α, что приводит к образованию соответствующих ДНК-связывающих комплексов, активирующих специфические наборы генов [109].

Еще в 1996 г. Huang показал, что активность связывания с HIF1 с ДНК можно значительно усилить, если подвергать клетки воздействию острой гипоксии (1% O₂). При этом при переводе клеток обратно в условия нормоксии (21% O₂) активность связывания резко падает из-за деградации субъединицы Hif1-α [110]. В условиях нормоксии Hif1-α-белок гидроксилируется по остаткам пролина, расположенным в O₂-зависимом домене (**ODD**, *oxygen-dependent degradation domain*), который состоит примерно из 200 аминокислотных остатков и является центральной частью Hif1-α [111]. Гидроксилирование осуществляется специфическими пролил-гидроксилазами **PHD** (*prolyl hydroxylases*).

PHD являются цитоплазматическими белками [77] и кодируются соответствующими EglN-ге-

нами: PHD1 (также обозначается как HPH3 – HIF-пролил-гидроксилаза 3) кодируется геном EglN2, PHD2 (HPH2) – EglN1, а PHD3 (HPH1) – геном EglN3. Они входят в семейство 2-оксоглутарат (2OG)-зависимых оксидаз, участвующих во многих физиологических процессах, в том числе в протеосомной деградации белков [112–114]. В тканях человека наибольшей физиологической значимостью из PHD обладает PHD2. Гидроксилирование Hif1-α под действием PHD2 в присутствии кислорода происходит по одному или двум остаткам пролина, Pro-564 и Pro-402 [109], в -Leu-X-X-Leu-Ala-Pro-последовательности [77]. В результате активируется связывание Hif1-α с белком-онкосупрессором pVHL (Von Hippel-Lindau, фон Хиппел-Линдау) [114, 115], который существует в клетке в составе комплекса VCB (pVHL-elonginC-elonginB complex), являющегося сигнальной молекулой в E2-лигаза-опосредованном каскаде. Это связывание приводит к убиквитинированию и протеосомной деградации Hif1-α [113]. Этот механизм в условиях нормоксии обеспечивает быстрый кругооборот Hif1-α в клетке (в пределах 4–5 мин). Упрощенная схема регуляции Hif1-α на молекулярном уровне представлена на рис. 1.

Marxsen провел анализ экспрессии mRNA различных PHD на иммортализованной линии клеток гепатомы HepG2 и первичной культуре RPTEC (эпителиальных клеток проксимальных почечных канальцев человека), культивированных в условиях нормоксии (21% O₂) и острой гипоксии (1% O₂). Транскрипция PHD1 оказалась

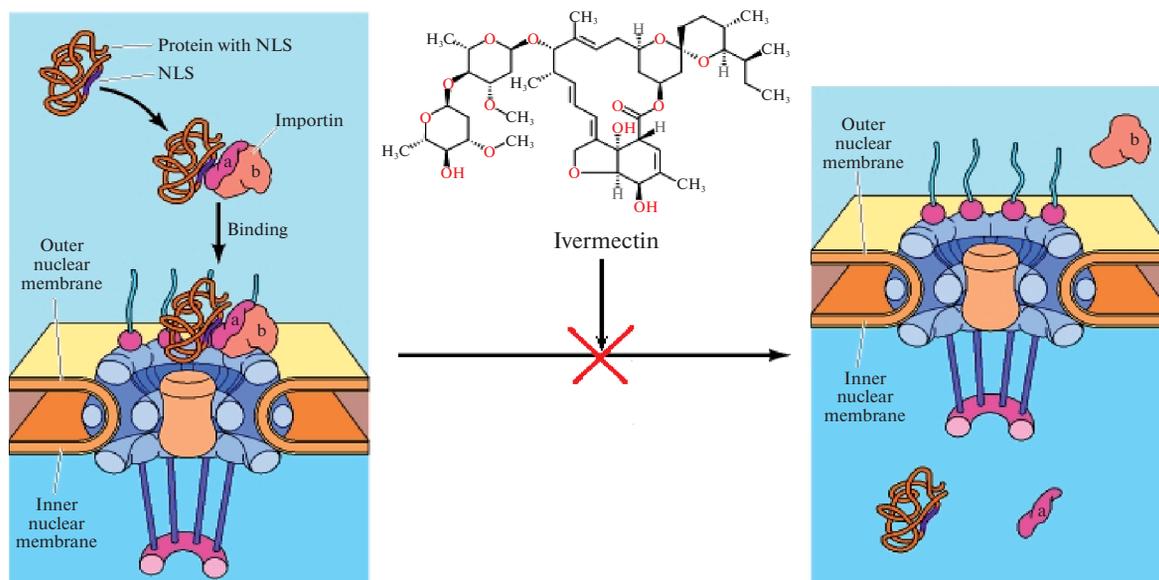


Рис. 2. Схема механизма действия ивермектина на α/β -импортин [119].

конститутивной в обеих линиях клеток, в то время как уровень mRNA PHD2 и PHD3 индуцировался гипоксией, причем в культуре, выращенной в условиях 18-часовой гипоксии, индукция PHD2 и PHD3 была выше, чем в культуре, выращенной в условиях одного часа воздействия гипоксии [112]. В другом исследовании, проведенном на клетках, мутантных по гену VHL, было продемонстрировано, что подавление Hif1- α с использованием siRNA (*small interfering RNA* – малая интерферирующая РНК) приводит к снижению эффекта гипоксии на экспрессию PHD3. Также было показано, что непродолжительная гипоксия (4 ч) индуцирует экспрессию PHD2 независимо от наличия Hif-1 α , а в 16-часовой культуре уровень PHD2 снижался на фоне siRNA-зависимой деградации Hif-1 α [116].

Период полураспада Hif1- α составляет ~5–8 мин после реоксигенации (последовательном переходе из условий гипоксии в условия нормоксии) [117]. В условиях недостатка O₂ происходят блокирование гидроксилирования Hif1- α и, как следствие, прекращение деградации этого белка, что обеспечивает его стабилизацию и накопление в цитоплазме, транспортировку в ядро, димеризацию с ARNT и таким образом запуск HIF1-зависимого каскада. Повышенная активность HIF1-каскада характерна для опухолевых клеток, отличающихся быстрым ростом и, соответственно, высокой потребностью в кислороде [114].

Для опухолевых клеток характерны частые мутации в гене VHL, что ведет к стабилизации в них Hif1- α и, соответственно, активации HIF1-каскада. Таким образом, подавление активности гена VHL вызывает эффект, подобный воздействию гипоксии.

Известно, что аминокислотная последовательность 549–582 α -субъединицы фактора HIF1 взаимодействует с β -доменом pVHL, и мутации в этом домене, ассоциированные с опухолью, вызывают потерю взаимодействия между дефектным pVHL и нормальным HIF1- α , приводя к нарушению убиквитинирования последнего [118].

В результате вызванной гипоксией стабилизации Hif1- α этот белок транспортируется из цитоплазмы в ядро клеткой посредством α/β -импортин зависимо механизма. В частности, было показано, что, ингибируя ивермектином расположенный в ядерном поровом комплексе α/β -импортин, можно предотвратить транспорт Hif1- α в ядро и тем самым снизить активность HIF1-зависимых генов (рис. 2) [119].

HIF1-зависимый каскад является важным регулятором многих процессов в клетке [120], в том числе регулирует клеточную и тканевую адаптацию к стрессовым воздействиям, в частности гипоксии. Сайты связывания с HIF1-транскрипционным фактором (HRE) обнаружены в промотерной области генов, кодирующих ферменты гликолиза, белки, контролирующие ангиогенез (рост и развитие сосудов), синтазу окиси азота, гемоксигеназу-1, тирозингидроксилазу и многих других. Это указывает на важность данного каскада для регуляции ключевых клеточных функций [121], включая апоптоз, пролиферацию и миграцию, а также эмбриональное развитие [122]. Известна и антибактериальная активность Hif1- α через индукцию ROS (*reactive oxygen species*) [123]. Локальная острая гипоксия приводит к повышению синтеза белков ангиогенеза (стимуляции роста и развития сосудов), усиленной подвижности и инвазивно-

сти клеток, способности выживать в условиях оксидативного стресса, а также приводит к изменению в метаболизме клеток, в том числе опосредует метаболизм глюкозы [79].

Наряду с положительным влиянием активации HIF1 на клеточные процессы известны ее многочисленные негативные эффекты, поскольку HIF1 играет роль в патогенезе различных заболеваний [124]. Так, HIF1-опосредованный метаболический сдвиг играет решающую роль в некоторых аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона), системный и множественный склероз [125]. Среди аутоиммунных заболеваний кожи наибольшую негативную роль активация HIF1-каскада играет в патогенезе псориаза [126, 127]. Одним из патогенетических коррелятов псориаза является ненормальный ангиогенез, индуцированный VEGF-фактором – геном-мишенью HIF1 [128]. Обнаружено, что помимо активации VEGF псориатическое поражение кожи усугубляет и повышенная экспрессия других проангиогенных факторов: FLT-1 и FLK-1 (рецепторы VEGF), PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена 1), MMP-2 и MMP-9 (матриксные металлопротеиназы) [129], также зависимых от активности HIF1.

Известно также, что сигнальный путь Hif1- α /ARNT контролирует метастазирование [122, 130]. Повышенная активность HIF1-каскада очень характерна для опухолевых клеток [114, 131, 132]. Рост опухоли сопровождается гипоксией, что приводит к повышенной экспрессии VEGF, играющего ключевую роль в прогрессировании опухолевого роста [133–135]. Помимо VEGF в процесс роста опухоли вовлечены другие активируемые гипоксией белки: гликолитические ферменты (PGK, ALDA), переносчики глюкозы (GLUT1), белки, регулирующие метастазирование (CXCR4, E-cadherin) [136]. Опосредованной активностью HIF1-каскада избыточный рост сосудов делает опухоль устойчивой к действию многих противоопухолевых препаратов, поэтому анти-VEGF-терапия является одним из основных подходов к лечению опухоли [137, 138]. HIF1-зависимая активация IL-11 также может способствовать ангиогенезу, усугубляющему прогрессирование опухолевого перерождения клеток [139, 140].

Таким образом, транскрипционная активность HIF1 является основным механизмом, обеспечивающим адаптацию клеток к условиям острой и хронической гипоксии. Существенную роль HIF1-каскад играет и в регуляции физиологических и патологических процессов в коже, в том числе затрагивающих ее развитие и регенерацию при повреждении. Использование гипоксии в качестве стрессового фактора может быть эффективным инструментом в тканевой инженерии и

клеточной трансплантологии, позволяющим получать клетки с повышенным уровнем синтеза факторов ранозаживления, активируемым в результате клеточного ответа на гипоксический стресс.

6. ГИПОКСИЯ И HIF-1 В КОНТРОЛЕ ФУНКЦИЙ ФИБРОБЛАСТОВ

Одним из значимых клинических последствий травмы кожных покровов является повреждение сосудов, что вызывает резкое снижение трофики в ткани и, как следствие, развитие местной гипоксии [8]. Интересно, что клетки, особенно фибробласты, находящиеся в поверхностной зоне раны и испытывающие дефицит кислорода, обладают повышенной пролиферативной и миграционной активностью, а также повышенным потенциалом к выработке факторов, способствующих ранозаживлению [141, 142]. Повышение фибробластами экспрессии генов, контролирующих и ускоряющих процесс ранозаживления, является прямым следствием активации в них гипоксия-зависимого каскада HIF1 [79]. Среди этих генов особую значимость играют гены, кодирующие Col I и Col III, эластин и фибронектин (Fn), а также различные MMP [35, 53, 76, 143–149].

Не менее важными с точки зрения ранозаживления мишенями HIF1-каскада в фибробластах дермы кожи являются коллаген-пролилгидроксилазы – P4HA1 и P4HA2, а также коллаген-лизилгидроксилаза PLOD2, которые контролируют посттрансляционные модификации коллагена, способствующие фолдингу белка [78, 150]. P4HA1 и P4HA2 принадлежит главная роль и в биосинтезе коллагена [77, 151]. Посттрансляционная модификация проколлагена контролируется пролилгидроксилазами P4H посредством гидроксилирования остатков пролина. Гидроксилирование обеспечивает функциональность коллагена, поскольку эти остатки важны для правильного трехмерного свертывания полипептидных цепей проколлагена в стабильные трехспиральные структуры. PLOD2 контролирует характер и степень прочности волокон коллагена, также осуществляя его посттрансляционную модификацию [150]. PLOD2 гидроксилирует остатки Lys в Y-положении повторяющихся триплетов X-Y-Gly трехспиральной структуры молекулы коллагена [152]. После гидроксилирования формируется трехспиральная молекула проколлагена, которая транспортируется из эндоплазматического ретикула в комплекс Гольджи и секретируется в цитоплазму. Там N- и C-концы проколлагена отщепляются группой металлопротеиназ с образованием зрелой молекулы коллагена [78]. Роль P4Hs и PLOD2 в посттрансляционной модификации молекул проколлагена показана на рис. 3.

Помимо контроля экспрессии генов поцесинга коллагена комплекс HIF1- α /ARNT связы-

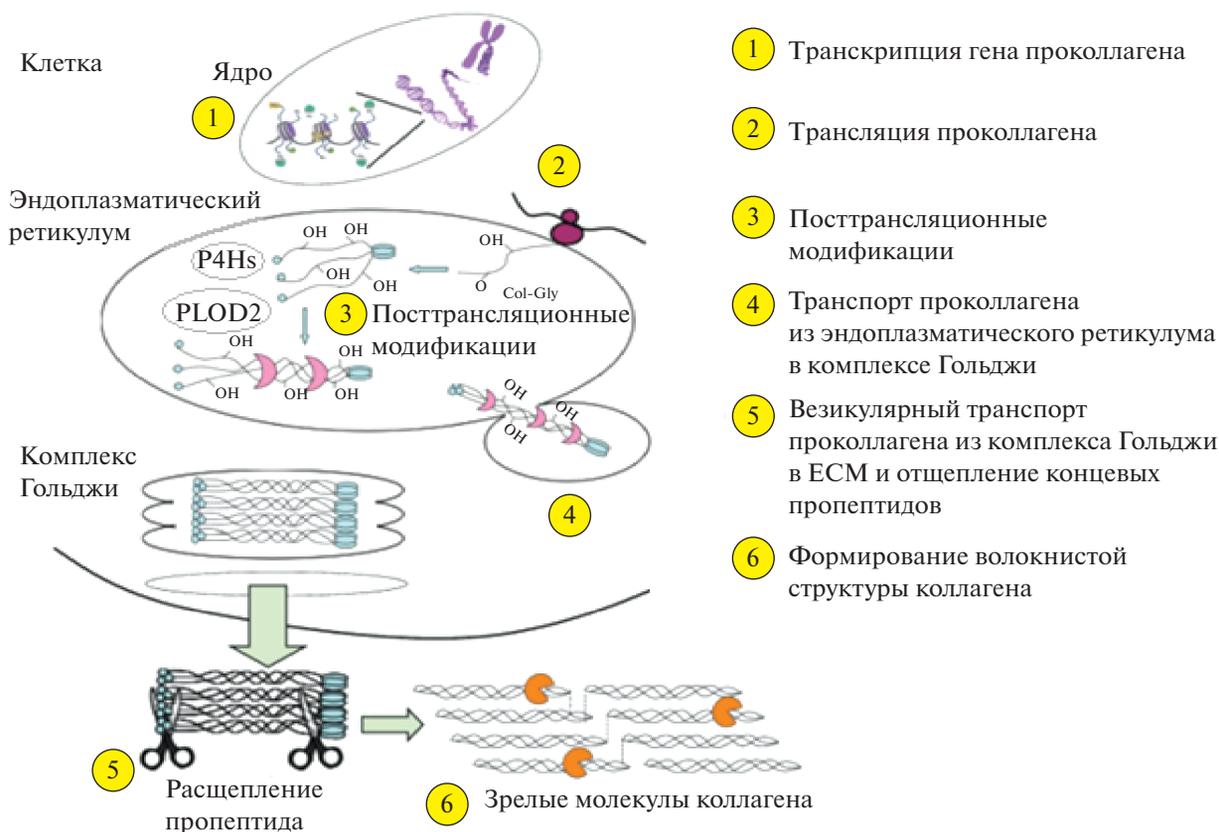


Рис. 3. Созревание молекул проколлагена в клетке.

вается с HRE в промоторной области генов, контролирующих ангиогенез, таких как VEGF- α [108], SDF1 (фактор 1, выделенный из стромальных клеток), IL-11, PGF (плацентарный фактор роста), PDGF-B (тромбоцитарный фактор роста B) и ANGPT (ангиопоэтин) [79]. Контроль ангиогенеза является ключевой функцией транскрипционного комплекса HIF1. В последние годы был проведен ряд исследований, в которых, блокируя различными агентами белки, направляющие Hif1- α на протеосомную деградацию, удалось не только стабилизировать уровень Hif1- α , но и активировать синтез VEGF- α и Col I [153–155].

Гипоксия контролирует не только экспрессионные, но и физиологические особенности фибробластов. Согласно [156] феномен перехода нормальных дермальных фибробластов в миофибробласты (для которых характерна высокая экспрессия α SMA, а также Col I и Col III) связан с активацией сигнального пути TGF- β 1/Smad3, который, в свою очередь, активируется гипоксией. Считается, что белки Smad играют важную роль в регуляции внутриклеточных ответов на TGF- β 1. Было показано, что после фосфорилирования Smad2 и Smad3, индуцированного TGF- β 1, эти белки локализуются в ядре и образу-

ют комплекс со Smad4, который обеспечивает экспрессию профибротических генов. Блокада Smad3 и SIS3 показала значительное нарушение экспрессии индуцируемых гипоксией белков (α -SMA, Col I и Col III).

С учетом ключевой роли HIF1-зависимого регуляторного каскада в повышении экспрессии факторов ранозаживления использование фибробластов, иммобилизованных на полимерных тканеинженерных матриксах с их предварительным культивированием в условиях гипоксии, является перспективным подходом к лечению кожных ран и ожогов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фибробласты являются важнейшим типом клеток, участвующим в заживлении кожных ран в силу их ключевой роли в синтезе компонентов внеклеточного матрикса и белков, участвующих в раневом ангиогенезе [11, 75]. Кратковременное гипоксическое воздействие на дермальные фибробласты в системе *in vitro* приводит к активации HIF1-каскада и, как следствие, стимуляции экспрессии генов, контролирующих синтез белков, формирующих ECM (Col I, Col III, Fn), а также их процессинг (P4HA1 и P4HA2, PLOD2, MMP).

Таблица 1. Гены, экспрессируемые фибробластами дермы и играющие роль в процессе ранозаживления

Аббревиатура	Полное название гена	Функции	Литература
Гены, кодирующие структуру белков ЕСМ			
Col I	Коллаген I	Фибриллярный коллаген, обеспечивает механическую прочность дермы, составляет 80–90% сухого веса кожи	[33, 72–74, 140, 141, 145]
Col VII	Коллаген VII	Обеспечивает прочную связь базального слоя эпидермиса с соединительной тканью дермального слоя кожи	[33]
Col III	Коллаген III	Фибриллярный коллаген, главный интерстициальный коллаген человека в эмбриональном и раннем постнатальном периоде	[72–74, 140, 141, 145]
ELN	Эластин	Обеспечивают эластичность и упругость дермы	[35, 72–74]
FN	Фибронектин	Главная функция – связывание клеток с межклеточным веществом; регулирует сборку коллагеновых фибрилл, стимулирует пролиферацию и миграцию клеток, способствует адгезии и распространению эпителиальных и мезенхимальных клеток	[72–74]
Гены, регулирующие HIF-каскад			
PHD1, PHD2 и PHD3	Пролил-гидроксилазы 1, 2 и 3	Осуществляют гидроксилирование Hif1- α , активируя связывание Hif1- α с белком-онкосупрессором pVHL, что приводит к убиквитинированию и протеосомной деградации Hif1- α	[75, 109–113]
Гены, кодирующие белки, участвующие в процессинге белков ЕСМ			
P4ha1 и P4ha2	Коллаген-пролил-гидроксилазы 1 и 2	Способствуют синтезу коллагена и осуществляют его посттрансляционные модификации в процессе ремоделирования ЕСМ	[75, 76, 147–149]
Plod2	Коллаген-лизилгидроксилаза		
MMP	Металлопротеиназы	Ферменты, разлагающие ЕСМ; играют главную роль в деградации волокон коллаген, удаляют продукты денатурации ЕСМ	[15, 37, 41, 51, 84–86]
TIMP	Тканевые ингибиторы металлопротеиназ	Ингибируют деградацию матрикса	[15]
Гены, стимулирующие ангиогенез			
VEGF	Эндотелиальный фактор роста сосудов	Способствует образованию в верхних слоях дермы новых сосудов	[41, 72, 73, 77, 82, 134, 135]
IL-11	Интерлейкин 11	Участвует в контроле синтеза	[77, 136, 137]
HGF	Фактор роста гепатоцитов	Стимулирует пролиферацию клеток эндотелия сосудов	[72, 82]
Гены, влияющие на активность кератиноцитов			
KGF	Кератиноцитарный фактор роста	Контролирует миграцию и пролиферацию кератиноцитов	[15, 31]

Таблица 1. Окончание

Аббревиатура	Полное название гена	Функции	Литература
EGF	Эпидермальный фактор роста	Стимулирует пролиферацию кератиноцитов, усиливает реэпителизацию (миграцию кератиноцитов) острой раны за счет увеличения уровня экспрессии кератинов К6 и К16	[15, 31, 78, 79]
FGF	Фактор роста фибробластов	Участвует в развитии кожи плода и контролирует пролиферацию и улучшает реэпителизацию, придает кератиноцитам повышенную подвижность в процессе реэпителизации, стимулирует синтез компонентов ЕСМ, участвует в ангиогенезе	
FGF2	Фактор роста фибробластов 2	Активирует экспрессию кератинов К6, К16 и К17, важных для миграции кератиноцитов; увеличивает подвижность кератиноцитов	[15, 31, 80, 81]
IL-1 и IL-6 TNF- α	Интерлейкин 1 и 6 Фактор некроза опухоли альфа	Стимулируют миграцию кератиноцитов и фибробластов в раневое поле и активируют секрецию фибробластами FGF; участвует в ангиогенезе	[37, 41]
TGF- β	Трансформирующий фактор роста бета	Контролирует феномен трансформации фибробластов в миофибробласты, стимулирует образование грануляционной ткани при ранении, участвует в ангиогенезе, регулирует обратный переход дифференцирующихся кератиноцитов к базально-клеточному фенотипу	[37, 50, 77]

Эти механизмы играют важнейшую роль в восстановлении ЕСМ в ходе ранозаживления. Большую важность для ранозаживления представляют и гены, участвующие в ревазуляризации раневого поля – в ангиогенезе (VEGF- α , IL-11). Таким образом, NIF1-каскад, являющийся основным регулятором физиологического ответа клетки на воздействие гипоксии, является ключевым фактором ранозаживляющего потенциала фибробластов. Из этого следует, что экспонирование фибробластов (как в клеточной взвеси, так и иммобилизованных на полимерных матриксах) гипоксии может повысить эффективность применения дермальных эквивалентов в терапии ран и ожогов. Такой подход требует подбора оптимального времени воздействия гипоксии для обеспечения максимального эффекта и одновременно исключения негативного влияния слишком продолжительного воздействия гипоксии на физиологию клеток. В целом кратковременное предварительное экспонирование фибробластов гипоксии и, соответственно, активация в них NIF1-каскада позволит не только стимулировать секрецию белков ранозаживления, но и сохранить жизнеспособность дермальных фибробластов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Trompette A., Ubags N.D.* Skin Barrier Immunology from early life to adulthood. *Mucosal Immunology*. 2023.
2. *Быков В.Л., Юшканцева С.И.* Гистология, цитология и эмбриология. Атлас. М.: ГЭОТАР–МЕДИА, 2013.
3. *Noske K.* // *J. Dermatol. Sci.* 2018. V. 89. № 1. P. 3.
4. *Frykberg R.G., Zgonis T., Armstrong D.G. et al.* // *J. Foot Ankle Surgery*. 2006. V. 45. № 5. P. 1.
5. *Lavery L.A., Armstrong D.G., Wunderlich R.P. et al.* // *Diabetes Care*. 2003. V. 26. № 4. P. 1069.
6. *Armstrong D.G., Lavery L.A., Harkless L.B.* // *Diabetes Care*. 1998. V. 21. № 5. P. 855.
7. *Alexiadou K., Doupis J.* // *Diabetes Ther.* 2012. V. 3. № 1. P. 1.
8. *Винник Ю.С., Салмина А.Б., Дробушевская А.И.* // *Новости хирургии*. 2011. Т. 19. № 3. С. 101.
9. *Кириенко А.И., Григорян Р.А., Богачев В.Ю., Богданец Л.И.* // *Consilium medicum*. 2000. V. 2. № 4. P. 16.
10. *Оболенский В.Н., Родоман Г.В., Никитин В.Г., Карев М.А.* // Трофические язвы нижних конечностей: обзор проблемы. 2011. С. 36–38.
11. *Schultz G.S., Wysocki A.* // *Wound Repair Regen.* 2009. V. 17. № 2. P. 153.

12. Winter G.D. // Nature. 1962. V. 193. P. 293.
13. Winter G.D. // Adv. Exp. Med. Biol. 1977. V. 94. P. 673.
14. Taylor J.M., Mitchell W.M., Cohen St. // J. Biol. Chem. 1972. V. 247. № 18. P. 5928.
15. Tottoli E.M., Dorati R., Genta I. et al. // Pharmaceutics. 2020. V. 12 (8). P. 735.
16. Lee S.J., Atala A. // Biomed. Mater. 2013. V. 8. № 1. P. 2.
17. Losquadro W.D. // Facial Plastic Surgery Clinics. 2017. V. 25. № 3. P. 283.
18. Hu M.S., Borrelli M.R., Hong W.X. et al. // Organogenesis. 2018. V. 14. № 1. P. 46.
19. Driskell R., Lichtenberger B., Hoste E. et al. // Nature. 2013. V. 504. P. 277.
20. Кузнецов С.Л., Горячкина В.Л., Цомартова Д.А. и др. // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2013. № 2. С. 26.
21. Yousef H., Alhajj M., Sharma S. Anatomy, skin (integument), epidermis. 2017.
22. Alonso L., Fuchs E. // Proc. Natl. Acad. Sci. 2003. V. 100. № 1. P. 11830.
23. Ng K.W., Lau W.M. Skin Deep: The Basics of Human Skin Structure and Drug Penetration. Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement. 2015. P. 3.
24. Delevoye C. // J. Investig. Dermatol. 2014. V. 134. № 4. P. 877.
25. Gasque P., Jaffar-Bandjee M.C. // J. Infect. 2015. V. 71. № 4. P. 413.
26. Chen T., Zhao B., Liu Y. // J. Dermatol. Sci. 2018. V. 90. № 3. P. 253.
27. Суханов А.Ф., Мяделец О.Д. // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1988. Т. 94. № 4. С. 79.
28. Van der Aar A.M.G., Picavet D.I., Muller F.J. et al. // J. Investig. Dermatol. 2013. V. 133. № 5. P. 1240.
29. Clayton K., Vallejo A.F., Davies et al. // Front. Immunol. 2017. V. 8. P. 1676.
30. Roesch-Dietlen F., Devezé-Bocardi R., Ruiz-Juárez I. et al. // Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2013. V. 51. № 6. P. 696.
31. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. и др. Гистология, эмбриология, цитология. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2016. 800 с.
32. Woodley D.T. // Dermatologic Clinics. 2017. V. 35. № 1. P. 95.
33. Eklouh-Molinier C., Happillon T., Bouland N. et al. // Analyst. 2015. V. 140. № 18. P. 6260.
34. Sriram G., Bigliardi P.L., Bigliardi-Qi M. // Eur. J. Cell Biol. 2015. V. 94. № 11. P. 483.
35. Tracy L.E., Minasian R.A., Catterson E.J. // Adv. Wound Care. 2016. V. 5. № 3. P. 119.
36. Kehlet S.N., Willumsen N., Armbrecht G. et al. // PLOS One. 2018. V. 13. № 3.
37. Kular J.K., Basu S., Sharma R.I. // J. Tissue Eng. 2014. V. 5. P. 2041731414557112.
38. Halper J., Kjaer M. // Progress in heritable soft connective tissue diseases. 2014. P. 31.
39. Rodrigues M. et al. // Physiol. Rev. 2019. V. 99. № 1. P. 665.
40. Pastar I., Stojadinovic O., Yin N.C. et al. // Adv. Wound Care. 2014. V. 3. № 7. P. 445.
41. Krampert M., Bloch W., Sasaki T. et al. // Mol. Biol. Cell. 2004. V. 15. № 12. P. 5242.
42. Lynch M.D., Watt F.M. // J. Clin. Investig. 2018. V. 128. № 1. P. 26.
43. Stunova A., Vistejnova L. // Cytokine Growth Factor Rev. 2018. V. 39. P. 137.
44. Olczyk P., Mencner Ł., Komosinska-Vashev K. // BioMed Res. Int. 2014. V. 747584. P. 8.
45. Zou M.L., Teng Y.Y., Wu J.J. et al. // Front. Cell Dev. Biol. 2021. V. 9. P. 713605.
46. Satoshi K., Natsuko K., Kenji S., Kenji K. // Ann. Plast. Surg. 2013. V. 71. № 2. P. 219.
47. Varkey M., Ding J., Tredget E.E. // Tissue Eng. A. 2013. № 131017062434004.
48. Fisher G.J., Quan T., Purohit T. et al. // Am. J. Pathol. 2009. V. 174. № 1. P. 101.
49. Rippa A.L., Kalabusheva E.P., Vorotelyak E.A. // Cells. V. 2019. № 8. P. 607.
50. Sorrell J.M., Baber M.A., Caplan A.I. // J. Cell Physiol. 2004. V. 200. P. 134.
51. Mahmoudi S., Mancini E., Xu L. et al. // Nature. 2019. V. 574. P. 553.
52. Bentov I., Damodarasamy M., Plymate S. et al. // Biogerontology. 2014. V. 15. P. 329.
53. Левченко В.М. Сравнительная характеристика морфофункциональных свойств фибробластов сельскохозяйственных животных. Ставропольский государственный аграрный университет. 2016. 114 с.
54. Des Jardins-Park H.E., Foster D.S., Longaker M.T. // Regen. Med. 2018. V. 13. № 5.
55. Wallace H.A., Basehore B.M., Zito P.M. Wound Healing Phases. StatPearls Publishing. 2017.
56. Xue M., Jackson C.J. // Adv. Wound Care. 2015. V. 4. № 3. P. 119.
57. Desmoulière A., Chaponnier C., Gabbiani G. // Wound Repair Regen. 2005. V. 13. № 1. P. 7.
58. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. // Sci. Transl. Med. 2014. V. 6. № 265. P. 265.
59. Darby I.A., Laverdet B., Bonté F., Desmoulière A. // Clin. Cosmet. Investig. Dermatology. 2022. V. 7. № 2014. P. 301.
60. Bennett N.T., Schultz G.S. // Am. J. Surg. 1993. V. 165. № 6. P. 728.
61. Schurch W., Seemayer T.A., Hinz B., Gabbiani G. // Am. J. Pathol. 2007. V. 170. № 6. P. 1807.
62. Hinz B. // Curr. Res. Transl. Med. 2016. V. 64. № 4. P. 171.
63. Darby I., Skalli O., Crabbiani G. // Lab. Invest. 1990. V. 63. P. 21.
64. Hinz B., Celetta G., Tomasek J.J. et al. // Mol. Biol. Cell. 2001. V. 12. № 9. P. 2730.
65. Desmoulière A., Geinoz A., Gabbiani F., Gabbiani G. // J. Cell Biol. 1993. V. 122. № 1. P. 103.
66. Wang Y., Mack J.A., Maytin E.V. // J. Biol. Chem. 2019. V. 294. P. 12779.
67. Midgley A.C., Rogers M., Hallett M.B. et al. // J. Biol. Chem. 2013. V. 288. P. 14824.

68. Kumawat K., Koopmans T., Menzen M.H. et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2016. V. 311. № 3. P. 529.
69. Bainbridge P. // *J. Wound Care.* 2013. V. 22. № 8. P. 407.
70. Hinz B. // *J. Invest. Dermatol.* 2007. V. 127. № 3. P. 526.
71. Gumbiner B.M. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2005. V. 6. P. 622.
72. Ornitz D.M., Itoh N. // *WIREs Mechanisms of Disease.* 2022. V. 14. № 4.
73. Shin J.W., Kwon S.H., Choi J.Y. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 9. P. 2126.
74. Du H.C., Jiang L., Geng W.X. et al. // *Biomed Res. Int.* 2017. № 2578017.
75. Newman A.C., Nakatsu M.N., Chou W. et al. // *Mol. Biol. Cell.* 2011. V. 22. № 20. P. 3791.
76. Frantz C., Stewart K.M. // *J. Cell Sci.* 2010. V. 123. № 24. P. 4195.
77. Myllyharju J. // *Matrix Biol.* 2003. V. 22. № 1. P. 15.
78. Yamauchi M., Srocholpech M. // *Essays Biochem.* 2012. V. 52. P. 113.
79. Province P., Griguer C.E., Han X. et al. // *Evolution of the Molecular Biology of Brain Tumors and the Therapeutic Implications 2.* 2017. P. 106.
80. Thisse B., Thisse C. // *Dev. Biol.* 2005. V. 287. № 2. P. 390.
81. Xie Y., Su N., Yang J. et al. // *Sig. Transduct. Target Ther.* 2020. V. 5. № 181.
82. Barrientos S., Stojadinovic O., Golinko M.S. et al. // *Wound Repair Regen.* 2008. V. 16. № 5. P. 585.
83. Schultz G.S., Wysocki A. // *Wound Repair Regen.* 2009. V. 17. № 2. P. 153.
84. Yamakawa S., Hayashida K. // *Burns Trauma.* 2019. V. 7. P. 10.
85. Wilgus T.A. // *Adv. Wound Care.* 2012. V. 1. № 6. P. 249.
86. Park S. // *Biogerontology.* 2022. V. 23. P. 275.
87. Xu J., Zgheib C., Hobges M. et al. // *Physiol Genomics.* 2017. V. 26.
88. Gao W., Zhang Y., Yuan L. et al. // *Photochem. Photobiol.* 2023. V. P. 1.
89. Wells J.M., Gaggari A., Blalock J.E. // *Matrix Biol.* 2015. V. 44. P. 122.
90. Guillemin Y., Le Broc D., Segalen C. et al. // *J. Wound Care.* 2016. V. 25. № 7. P. 406.
91. Mendez M.V., Stanley A., Phillips T. et al. // *J. Vasc. Surg.* 1998. V. 28. № 6. P. 1040.
92. Raffetto J.D., Mendez M.V., Marien B.J. et al. // *J. Vasc. Surg.* 2001. V. 33. № 6. P. 1233.
93. Mendez M.V., Raffetto J.D., Phillips T. et al. // *J. Vasc. Surg.* 1999. V. 30. № 4. P. 734.
94. Herrick S.E., Sloan P., McGurk M. et al. // *Am. J. Pathol.* 1992. V. 141. № 5. P. 1085.
95. Cook H., Stephens Ph., Davies K.J. et al. // *J. Invest. Dermatol.* 2000. V. 115. № 2. P. 225.
96. Mason R.M., Wahab N.A. // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003. V. 14. P. 1358.
97. Salvatori M., Katari R., Patel T. et al. // *J. Diabetes Sci. Technol.* 2014. V. 8. № 1. P. 159.
98. McGarry K., Sefat E., Suh T.C. et al. // *Biomimetics.* 2023. V. 8. № 1. P. 99.
99. Зорин В.Л., Зорина А.И., Петракова О.С., Черкасов В.П. // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2009. Т. 4. № 4. С. 26.
100. Theobald V.A., Lauer J.D., Kaplan F.A. et al. // *Transplantation.* 1993. V. 55. № 1. P. 128.
101. Morimoto N., Saso Y., Tomihata K. et al. // *J. Surg. Res.* 2005. V. 125. № 1. P. 56.
102. Kazemi-Darabadi S., Sarrafzadeh-Rezaei F., Farshid A.A., Dalir-Naghadeh B. // *Int. J. Surg.* 2014. V. 12. № 8. P. 751.
103. Burke J.F., Yannas I.V., Quinby Jr. et al. // *Ann. Surg.* 1981. V. 194. № 4. P. 413.
104. Tsao C.T., Leung M., Chang et al. // *J. Mater. Chem. B.* 2014. V. 2. № 32. P. 5256.
105. Jingyue G., Jiaying H., Shaojin L. et al. // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2023. V. 9. № 2. P. 844.
106. Farris A.L., Rindone A.N., Grayson W.L. // *J. Mater. Chem. B.* 2016. № 20.
107. Wu D., Potluri N., Lu J. et al. // 2015. V. 524. № 7565. P. 303.
108. Semenza G.L., Jiang B.H., Leung S.W. et al. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 51. P. 32529.
109. Ziello J.E., Jovin I.S., Huang Y. // *Yale J. Biol. Med.* 2007. V. 80. P. 51.
110. Huang L.E., Arany Z., Livingston D.M., Bunn H.F. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 50. P. 32253.
111. Huang L.E., Gu J., Schau M., Bunn H.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998. V. 95. № 14. P. 7987.
112. Marxsen J.H., Stengel P., Doege K. et al. // *Biochem J.* 2004. V. 381. P. 761.
113. Rasheduzzaman C., Ignacio C.L.J., Chan M.C. et al. // *ACS Chem. Biol.* 2013. V. 8. № 7. P. 1488.
114. Tanimoto K., Yoshiga K., Eguchi H. et al. // *Carcinogenesis.* 2003. V. 24. № 11. P. 1779.
115. Chowdhury R., Candela-Lena J.I., Chan M.C. et al. // *ACS Chem. Biol.* 2013. V. 8. № 7. P. 1488.
116. Aprelikova O., Chandramouli G.V., Wood M. et al. // *J. Cell Biochem.* 2004. V. 92. № 3. P. 491.
117. Qutub A.A., Popel A.S. // *J. Cell Sci.* 2007. V. 119. № 16. P. 3467.
118. Cockman M.E., Masson N., Mole D.R. et al. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 33. P. 25733.
119. Kosyna F.K., Nagel M., Kluxen L. et al. // *Biol. Chem.* 2015. V. 396. № 12.
120. Fabian Z. *The Signaling Nature of Cellular Metabolism: The Hypoxia Signaling. Cell Signalling — Thermodynamics and Molecular Control.* 2019.
121. Huffman J.L., Mokashi A., Bächinger H.P., Brennan R.G. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 44. P. 40537.
122. Greijer A.E., van der Wall E. // *J. Clin. Pathol.* 2004. V. 57. № 10. P. 1009.
123. Peyssonnaud C., Boutin A.T., Zinkernagel A.S. et al. // *J. Invest. Dermatol.* 2008. V. 128. № 8. P. 1964.
124. Lee J.W., Ko J., Ju C., Eltzschig H.K. // *Exp. Mol. Med.* 2019. V. 51. № 6.

125. *Deng W., Feng X., Li X. et al.* // Cell. Immunol. 2016. V. 303. P. 7.
126. *Rosenberger C., Solovan C., Rosenberger A.D. et al.* // J. Invest. Dermatol. 2007. V. 127. № 10. P. 2445.
127. *Abdou A.G., Farag A.G.A., Hammam M. et al.* // J. Immunoassay Immunochem. 2018. V. 39. № 3. P. 249.
128. *Marina M.E., Roman I.I., Constantin A.M. et al.* // Clujul Med. 2015. V. 88. P. 247.
129. *Torales-Cardena A., Martinez-Torres I., Rodriguez-Martinez S. et al.* // Mediators Inflamm. 2015. № 607363.
130. *Masoud G.N., Li W.* // Acta Pharm. Sin. B. 2015. V. 5. № 5. P. 378.
131. *Shih J.W., Chiang W.F., Wu A. et al.* // Nat. Commun. 2017. V. 8. № 15874.
132. *Yang H., Zhang H., Yang Y. et al.* // Theranostics. 2020. V. 10. № 18. P. 8211.
133. *Goel H.L., Mercurio A.M.* // Nat. Rev. Cancer. 2013. V. 13. P. 871.
134. *Kieran M.W., Kalluri R., Cho Y.J.* // Cold Spring Harb Perspect Med. 2012. V. 2. № 12.
135. *Carmeliet P.* // Oncology. 2005. V. 69 № 3. P. 4.
136. *Keith B., Celeste S.M.* // Cell. 2007. V. 129. № 3. P. 465.
137. *Gardner V., Madu C.O., Lu Y.* // Physiologic and Pathologic Angiogenesis / Ed. Simionescu D. IntechOpen. 2017. P. 1380.
138. *Trédan O., Lacroix-Triki M., Guiu S. et al.* // Targeted Oncology. 2015. V. 10. № 2. P. 189.
139. *Cantor S.B., Elting L.S., Hudson Jr., D.V., Rubenstein E.B.* // Cancer. 2003. V. 97. № 12. P. 3099.
140. *Onnis B., Fer N., Rapisarda A. et al.* // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. № 4. P. 1615.
141. *Steinbrech D.S., Gittes G.K.* // J. Surg. Res. 1999. V. 84. № 2. P. 127.
142. *Nauta T., van Hinsbergh V., Koolwijk P.* // Int. J. Mol. Sci. 2014. V. 15. № 11. P. 19791.
143. *D'Alessandro S., Magnavacca A., Perego F. et al.* // BioMed Res. Int. 2019. P. 1.
144. *McKay T.B., Hjortdal J., Priyadarsini S., Karamichos D.* // PLOS One. 2017. V. 12. № 4. e0176017.
145. *Hong W.X., Hu M.S., Esquivel M. et al.* // Adv. Wound Care. 2014. V. 3. № 5. P. 390.
146. *Liu S.S., Wang H.Y., Tang J.M., Zhou X.M.* // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. № 12. P. 24029.
147. *Ruthenborg R.J., Ban J.J., Wazir A. et al.* // Mol. Cells. 2014. V. 37. № 9. P. 637.
148. *Yue B.* // J. Glaucoma. 2014. P. 1.
149. *Deppe J., Popp T., Egea V. et al.* // Arch. Toxicol. 2015. V. 90. № 5. P. 1141.
150. *Gilkes D.M., Bajpa S., Chaturvedi P. et al.* // J. Biol. Chem. 2013. V. 288. № 15. P. 10819.
151. *Kukkola L., Hieta R., Kivirikko K.I., Myllyharju J.* // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. № 48. P. 47685.
152. *Valtavaara M., Szpirer C., Szpirer J., Myllylä R.* // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. № 21. P. 12881.
153. *Shuo Q., Yachao J., Yunchu S. et al.* // J. Diabetes Res. 2019. Art. 1897174.
154. *Zhang X., Yan X., Cheng L. et al.* // PLoS One. 2013. V. 8. № 12.
155. *Dallas A., Trotsyuk A., Ilves H. et al.* // Tissue Eng. A. 2018.
156. *Zhao B., Guan H., Liu J.Q. et al.* // Int. J. Mol. Med. 2017. V. 39. № 1. P. 153.