

## THE ROLE OF THE PLASMINOGEN/PLASMIN SYSTEM IN WOUND HEALING

Bogomolets National Medical University (Kyiv, Ukraine)

serhiybadzyuh@ukr.net

Wound healing takes place in the course of several stages, which are regulated by complex biomolecular mechanisms. Violation of the activator-inhibitor balance of proteolytic systems is considered one of the main reasons for the prolongation of healing and, as a result, the transition of the wound to a chronic state. The plasminogen/plasmin (Pg/Pm) system exhibits several pleiotropic effects during tissue repair processes after damage by various factors. Plasminogen (Pg) accumulates at the site of tissue damage and turns into plasmin (Pm). After activation, Pm ensures the clearance of the wound from the fibrin layer and neutrophils and is involved in the activation of growth factors and matrix metalloproteinases (MMPs) and the remodeling and formation of new connective tissue. Pm acts as a potent mitogen concerning fibroblasts and directly affects keratinocytes, activating their migration. Administration of Pg to mutant mice deficient in this protein accelerates the healing of acute and chronic wounds in mice with experimental hyperglycemia. An artificially created fibrin-based matrix containing immobilized plasminogen significantly accelerated the rate of wound closure in mice with experimental diabetes. Systemic administration of plasminogen helped accelerate the healing of radiation wounds due to pleiotropic effects on gene expression.

The prevalence of trophic ulcers of various genesis in the population is 0.1-1.5%; in 24% of patients, their duration is more than a year. Despite the emergence of surgical and medical innovations, treating purulent-necrotic wounds is long and often unsuccessful. Plasminogen can be used as the basis of a new therapeutic strategy for treating chronic wounds of various pathogenesis.

**Key words:** diabetes, chronic wounds, healing, plasminogen/plasmin.

**Connection of the publication with planned research works.**

This work is a fragment of the research topic "Development and implementation of methods of diagnosis and treatment of surgical pathology of organs of the abdominal cavity and blood circulation," state registration number 0118U100439.

**Introduction.**

Wound healing is a complex, well-coordinated process that takes place in several stages: coagulation, inflammation, synthesis of substances of the intercellular matrix, angiogenesis, fibroplasia, epithelization, contraction, and remodeling of the scar. These events are caused by growth factors and cytokines released at the wound site by inflammatory cells and other stromal cells (keratinocytes, endotheliocytes, fibroblasts, neutrophils) in response to tissue damage. In addition, endogenous proteinases take an active part in each of these stages; namely, they cause proteolytic cleaning of the wound and lysis of the fibrin clot, provide remodeling of the extracellular matrix (ECM), and recruitment of proinflammatory cells, migration of keratinocytes and fibroblasts, which, in general, is necessary for an adequate course healing [1].

Under physiological conditions, each healing phase is properly activated and completed through the coordination of many signaling molecules, including cytokines, chemokines, and growth factors. Abnormal activation of any of these phases or lack of completion leads to chronic wound formation [2, 3].

According to the definition of a special meeting of the European Union of Tissue Repair (Cardiff, Wales, September 1996), "...chronic should be considered a wound that does not heal during a period that is normal for wounds of a similar type and location..." [4, 5]. Violation of the activator-inhibitor balance of proteolytic systems is considered one of the main reasons for the

prolongation of healing and, as a result, the transition of the wound to a chronic state. Research in recent years has demonstrated the significant role of the plasminogen/plasmin (Pg/Pm) system in the wound healing process.

**The aim of the study.**

Highlight and analyze current data on the role of plasminogen/plasmin system proteins in wound healing and outline the prospects for using plasminogen as a wound healing agent.

**Main part.**

Plasminogen (Pg) is a circulating proenzyme encoded by the PLG gene on the 6th chromosome. Under the action of activators (PA), the zymogen Pg is transformed into an active proteinase Pm. The conversion of Pg to Pm occurs with the participation of one of two physiological proteases: tissue-type protease (tPA) or urokinase-type protease (uPA) [6, 7, 8]. Pm is a serine proteinase with broad substrate specificity, cleaving a wide range of different proteins. Pm is a vital enzyme of the fibrinolytic system, ensuring the destruction of intravascular fibrin clots [9].

The Pg/Pm system exhibits several pleiotropic effects during the processes that underlie tissue repair after damage by various factors. Considering the ability of Pm to participate in the stages of tissue healing, some authors characterize it as the master regulator of wound healing [10].

Pg accumulates at the site of damage and is converted to Pm by activators localized on the cell surface. The zymogen is transported to the area of injury by inflammatory cells at the initial stages of healing. In an experiment on a model of burn wounds in mice, an increase in the local concentration of Pg near the damaged area was demonstrated in the early period of the inflammatory process development. Moreover, systemic administration of exogenous Pg to Pg gene knockout

mice on the background of burn pathology accelerated healing and scar formation [11]. The transformation of Pg into an active protease in damaged tissue is mainly provided by u-PA, which is localized on monocyte/macrophage receptors. At the same time, another activator of plasminogen tPA, in the area of damage, is much less involved [12].

After activation of Pm, it provides cleaning of the wound from fibrin and neutrophils. It is also involved in activating growth factors and MMP, remodeling, and forming new connective tissue and blood vessels [13, 14]. It is important to note that excessive fibrin accumulation is a characteristic feature of chronic wounds. The fibrin lamina creates a barrier for the migration of keratinocytes and provides conditions for developing infectious complications. Since Pm is the primary fibrinolytic agent in the body, the satisfactory operation of the Pg/Pm system is an essential condition for ensuring reparative processes [15].

Type 1 plasminogen activator inhibitor (RAI1) is an essential component of the hemostasis system that inhibits the action of urokinase and tissue-type plasminogen activators. RAI-1 is synthesized by megakaryocytes; during their fragmentation, the inhibitor accumulates in  $\alpha$ -granules of platelets, which make up 90% of the total content of the inhibitor in the human body [16, 17, 18]. One of the reasons for the deficiency of plasmin activity in the state of hyperglycemia can be the increased expression of RAI-1. In RAI-1 knockout mice with streptozotocin (STZ)-induced diabetes, healing of skin wounds and regeneration of muscle tissue occurs much faster than in animals with normal levels of the inhibitor. Kanno Y. and others demonstrated that restoring Pm activity by blocking its inhibitor ( $\alpha$ 2-AR) contributed to the acceleration of skin wound healing. The mechanism of this process is implemented through the activation of VEGF-induced angiogenesis, mediated by fibroblasts [19].

Pm directly affects the epithelization process of wounds, as evidenced by the results of previous studies; in mice with a deficiency of Pg, there is a delay in healing due to the weak migration ability of keratinocytes [20, 21]. These cells can bind the zymogen and initiate its transformation into an active protease. It was experimentally proven that pericellular Pm activates the migration of freshly isolated human epidermal keratinocytes and HaCaT cells in agarose gel. Their migration is entirely blocked by the  $\alpha$ 2-AP plasmin inhibitor, which is accompanied by inhibition of keratinocyte proliferation and loss of chemokinesis. Pm also enhances the elimination of *Candida albicans* by phagocytes and epidermal keratinocytes. Published data indicate the participation of Pm in the process of skin re-epithelialization [22]. Research conducted by Eriksson, P.O., etc. showed that the healing of tympanic membrane perforation is slowed down in uPA-deficient mice and ultimately stopped in Pg-deficient mice [23].

One of the critical functions in the healing process is played by fibroblasts - connective tissue cells capable of synthesizing and producing ECM components. Therefore, the active participation of fibroblasts in the restoration of the ECM is of great importance for the tissue remodeling phase in the wound healing process. It was established that in chronic wounds, fibroblasts produce an aberrant set of ECM elements, which leads to the

formation of significant defects in the structure of the intercellular matrix and, as a result, a sufficient amount of compression of the wound edges is not achieved, and a fibrous scar is formed [24].

Experimental studies revealed the ability of Pm to enhance the expression of Cyr61, a gene that controls the migration and cell proliferation of fibroblasts. Pm is a more powerful mitogen and migration factor for fibroblasts than thrombin. Pm dose-dependently stimulates DNA synthesis in mouse lung fibroblasts. It is not observed in mice defective in the PAR-1 receptor gene and is completely blocked by antibodies against the Cyr61 expression product [25]. Also, Pm promoted the release of the Cyr61 protein into the culture medium or ECM, making it accessible to other cells. Contributing to the infiltration of immune cells and controlling their activity, Pm takes an active part in wound healing at the beginning and final stages of this process [13].

Shen et al. demonstrated that administration of Pg to mutant mice deficient in this protein accelerates the healing of acute and chronic wounds in mice with STZ-induced diabetes. It was established that in chronic skin ulcers of diabetic mice, there is a permanent activation of the Pg/Pm system, which is associated with the transition of healing to the chronic form [11]. However, the mechanisms by which an inadequately functioning proteolytic system participates in impaired healing remain unknown. It can be assumed that one of the reasons for the dysfunction of the Pg/Pm system is a local deficiency of a functionally active zymogen, which is partially inactivated due to its increased glycosylation or an activator-inhibitor imbalance during hyperglycemia [26]. It cannot be ruled out that proteolytic fragments of Pg significantly contribute to the chronicity of healing - angiostatin - formed in damaged tissue during the chronic wound process in excessive amounts due to increased proteolytic activity, inhibiting reparative angiogenesis [27].

About 95% of cancer patients who receive radiation therapy have side effects in the form of skin defects and often develop radiation wounds and fibrosis. Fallah et al. showed that the introduction of Pg enhances the healing of radiation wounds due to a pleiotropic effect on the expression of specific genes. Using RNA sequencing, the authors found that Pg suppresses TLR, TNF, and WNT gene expression and signaling pathways controlled by TGF- $\beta$ , a significant positive regulator of fibrosis. Also, Pg enhanced the anti-inflammatory effect of arachidonic acid, significantly reducing inflammation in radiation wounds and improving granulation tissue remodeling compared to treatment results obtained in the placebo group. In addition, Pg induced metabolic changes, including a decrease in the rate of glycolysis. It is important to note that the identified factors whose synthesis is regulated by Pg are profibrotic. Therefore, in radiation wounds with excessive inflammation, Pg can enhance and redirect the healing process so that their course becomes more physiological and is not accompanied by the formation of a pronounced fibrous scar [10].

Since Pg suppresses the production of TGF- $\beta$  and some other profibrotic factors, this circumstance confirmed the importance of Pg functioning as a modulator of fibrotic tissue formation [28]. The authors of another work (Okunishi et al., 2011) proposed using Pm as a new therapeutic agent for controlling collagen deposition by fibrous fibroblasts [29].

Recent studies have shown a positive result of using a fibrin matrix with immobilized Pg for treating wounds in diabetic mice. Pg-loaded fibrin matrix applied to full-thickness diabetic mice significantly increased the rate of wound closure compared to material that did not contain Pg (control). In addition, histological analysis demonstrated improved re-epithelialization and collagen deposition in granulation tissue in mice treated with a fibrin frame filled with plasminogen, compared to the unloaded Pg fibrin frame [30].

#### Conclusions.

Since there is a trend of aging in the population of the world and an increase in the incidence of diabetes, oncological diseases, and diseases of the cardiovascular system, the problem of treating chronic ulcers is becoming more and more urgent. Wounds that do not heal for a long time become the cause of disability and deterioration of the quality of life and require high costs for treat-

ment. Despite developing and implementing innovative surgical and drug strategies, treating purulent-necrotic wounds is long and often unsuccessful. New treatments are likely to evolve from simply restoring a physiological process to stimulating the regenerative capacity of damaged tissue. This trend can potentially address a significant need in chronic wound care. The results of previous studies show that the plasminogen/plasmin system takes part in many links of the healing process, and the study of its influence on the mechanisms that develop in chronic wounds has great practical potential.

#### Prospects for further research.

Studying the effect of plasminogen on the healing of chronic diabetic wounds in humans is of practical interest. Studies and experiments on mice indicate that Pg may prove to be an attractive drug in treating chronic wounds.

DOI 10.29254/2077-4214-2022-4-167-16-22

УДК 617.586:616.379-008.64-089.48/.816

Бадзюх С. В.

## РОЛЬ СИСТЕМИ ПЛАЗМІНОГЕН/ПЛАЗМІН У ЗАГОЄННІ РАН

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ, Україна)

[serhiybadzyuh@ukr.net](mailto:serhiybadzyuh@ukr.net)

*Загоєння ран реалізується в ході декількох етапів, які регулюються складними біомолекулярними механізмами. Порушення активаторно-інгібіторного балансу протеолітичних систем вважається однією з найголовніших причин пролонгування загоєння та, як наслідок, переходу рани до хронічного стану. Система плазміноген/плазміну (Pg/Pt) проявляє низку плейотропних ефектів в ході процесів, які лежать в основі репарації тканин після пошкодження різними чинниками. Плазміноген (Pg) акумулюється в місці пошкодження тканин та перетворюється на плазмін (Pt). Після активації Pt забезпечує кліренс рани від фібринового шару, нейтрофілів та залучається до активації факторів росту та матриксних металопротеїназ (ММР) й ремоделювання та формування нової сполучної тканини. Pt виступає потужним мітогеном по відношенню до фібробластів та безпосередньо впливає на кератиноцити, активуючи їхню міграцію. Введення Pg мутантним мишам з дефіцитом цього протеїну прискорює загоєння гострих ран та хронічних ран у мишей з експериментальною гіперглікемією. Штучно створений матрикс на основі фібрину, що містить імібілізований плазміноген, сприяв значному прискоренню швидкості закриття ран у мишей з експериментальним діабетом. Системне введення плазміногену сприяло прискоренню загоєння променевих ран за рахунок плейотропної дії на експресію генів.*

*Поширеність трофічних виразок різного ґенезу серед населення становить 0,1-1,5%, у 24% хворих тривалість їх сягає більше року. Незважаючи на появу хірургічних, медикаментозних інновацій лікування гнійно-некротичних ран є тривалим і часто безуспішним. Плазміноген може бути використаний як основа нової терапевтичної стратегії для лікування хронічних ран різного патогенезу.*

**Ключові слова:** цукровий діабет, хронічні рани, загоєння, плазміноген/плазмін.

#### Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дана робота є фрагментом НДР «Розробка та впровадження методів діагностики та лікування хірургічної патології органів черевної порожнини та кровообігу», № держреєстрації 0118U100439.

#### Вступ.

Загоєння ран – це складний, чітко скоординований процес, який відбувається за низки етапів: коагуляції, запалення, синтезу речовин міжклітинного матриксу, ангіогенезу, фіброплазії, епітелізації, контракції та ремоделювання рубця. Ці події викликані факторами росту та цитокинами, які виділяються в місці рани запальними клітинами та іншими стромальними клітинами (кератиноцитами, ендоте-

ліоцитами, фібробластами, нейтрофілами), у відповідь на пошкодження тканин. Ендогенні протеїнази беруть активну участь у кожній з цих стадій, а саме, зумовлюють протеолітичне очищення рани та лізис фібринового згустку, забезпечують ремоделювання екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) та рекрутинг прозапальних клітин, міграцію кератиноцитів та фібробластів, що, в цілому, є необхідним для адекватного перебігу загоєння [1].

За фізіологічних умов кожна з фаз загоєння належним чином активується і завершується через координацію великої кількості сигнальних молекул, включаючи цитокини, хемокіни і фактори росту. Аномальна активація будь якої з цих фаз або відсутність

їх завершення призводить до утворення хронічних ран [2, 3].

Згідно визначення спеціального засідання Європейської спілки репарації тканин (Cardiff, Wales, вересень 1996), «...хронічною слід вважати рану, яка не загоюється протягом періоду, який є нормальним для ран подібного типу і локалізації...» [4, 5]. Порушення активаторно-інгібіторного балансу протеолітичних систем вважається однією з найголовніших причин пролонгування загоєння та, як наслідок, переходу рани до хронічного стану. Дослідження останніх років продемонстрували значну роль системи плазміноген/плазміну (Pg/Pm) в процесі загоєння ран.

#### Мета дослідження.

Висвітлити та проаналізувати сучасні дані стосовно ролі протеїнів плазміноген/плазмінової системи в загоєнні ран та окреслити перспективи застосування плазміногену як ранозагоювального засобу.

#### Основна частина.

Плазміноген (Pg) – циркулюючий профермент, який кодується геном PLG, локалізованому на 6-й хромосомі. Зимоген Pg під дією активаторів (PA) перетворюється на активну протеїназу Pm. Конвертація Pg на Pm відбувається за участі однієї з двох фізіологічних протеаз: протеаза тканинного типу (tPA) або протеаза урокіназного типу (uPA) [6, 7, 8]. Pm є сериною протеїназою, що володіє широкою субстратною специфічністю, розщеплюючи широке коло різних протеїнів. Pm є ключовим ферментом фібринолітичної системи, забезпечуючи руйнування внутрішньосудинних фібринових згустків [9].

Система Pg/Pm проявляє низку плейотропних ефектів в ході процесів, які лежать в основі репарації тканин після пошкодження різними чинниками. Враховуючи здатність Pm приймати участь в етапах загоєння тканин деякі автори характеризують його як головний регулятор загоєння (*“master regulator of wound healing”*) [10].

Pg накопичується в локусі пошкодження та конвертується на Pm активаторами, локалізованими на поверхні клітин. Зимоген транспортується до місця пошкодження запальними клітинами ще на початкових етапах загоєння. В експерименті на моделі опікових ран у мишей продемонстровано зростання локальної концентрації Pg поблизу ділянки пошкодження у ранньому періоді розвитку запального процесу. Більш того, системне введення екзогенного Pg нокаутуванням за геном Pg мишам на фоні опікової патології прискорювало загоєння та утворення рубця [11]. Перетворення Pg на активну протеазу в пошкодженій тканині забезпечує, переважно, u-PA, який локалізований на рецепторах моноцитів/макрофагів. Водночас інший активатор плазміногену tPA, в ділянці пошкодження, задіяний значно меншою мірою [12].

Після активації Pm, забезпечує очищення рани від фібрину, нейтрофілів, а також залучається до активації факторів росту та MMP, ремоделювання і формування нової сполучної тканини та судин [13, 14]. Важливо зазначити, що характерною ознакою хронічних ран є надмірне накопичення фібрину. Фібринова плівка створює бар'єр для міграції кератиноцитів та забезпечує умови для розвитку інфекційних ускладнень. Оскільки Pm є основним фібринолітиком в ор-

ганізмі, то адекватна робота системи Pg/Pm є важливою умовою забезпечення репаративних процесів [15].

Інгібітор активатора плазміногену 1-го типу (plasminogen activator inhibitor, PAI1) є важливим компонентом системи гемостазу, який пригнічує дію активаторів плазміногену урокіназного та тканинного типу. PAI-1 синтезується мегакаріоцитами, під час фрагментації яких інгібітор накопичується в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитів, що складає 90% загального вмісту інгібітора в організмі людини [16, 17, 18]. Однією з причин дефіциту плазмінової активності за стану гіперглікемії може бути підвищена експресія PAI-1. У нокаутуваннях за геном PAI-1 мишей зі стрептозоцин (СТЗ)-індукованим цукровим діабетом загоєння ран шкіри та регенерація м'язової тканини відбувається значно швидше, ніж у тварин з нормальним рівнем інгібітора. Kanno Y. та ін. продемонстрували, що відновлення діяльності Pm через блокування його інгібітору ( $\alpha$ 2-AP) сприяло прискоренню загоєння ран шкіри. Механізм цього процесу реалізується через активацію VEGF-індукованого ангіогенезу, опосередкованого фібробластами [19].

Pm безпосередньо впливає на процес епітелізації ран, про що свідчать результати попередніх досліджень, у мишей з дефіцитом Pg спостерігається затримка загоєння через слабку міграційну здатність кератиноцитів [20, 21]. Ці клітини здатні зв'язувати зимоген та ініціювати його перетворення на активну протеазу. Експериментально доведено що перицелюлярний Pm активує міграцію свіжоізолюваних епідермальних кератиноцитів людини та клітин HaCaT в агарозному гелі. Їхню міграцію повністю блокує інгібітор плазміну  $\alpha$ 2-AP, що супроводжується інгібуванням проліферації кератиноцитів та втратою хемокінезу. Pm також підсилює знешкодження *Candida albicans* фагоцитами та епідермальними кератиноцитами. Опубліковані данні вказують на участь Pm у процесі реепітелізації шкіри [22]. Дослідження проведене Eriksson, P.O. та ін. показало, що загоєння перфорації барабанної перетинки сповільнюється у мишей з дефіцитом uPA і повністю зупиняється у мишей з дефіцитом Pg [23].

Одну з ключових функцій у процесах загоєння відіграють фібробласти – клітини сполучної тканини, які здатні синтезувати та продукувати компоненти ЕЦМ. Активна участь фібробластів у відновленні ЕЦМ має велике значення для перебігу фази ремоделювання тканин в процесі загоєння ран. Встановлено, що в хронічних ранах фібробласти продукують аберантний набір елементів ЕЦМ, що призводить до утворення значних дефектів в структурі міжклітинного матриксу та, як наслідок, не досягається достатня величина стискання країв рани й утворюється фіброзний рубець [24].

В експериментальних дослідженнях виявлена здатність Pm підсилювати експресію Cyr61 – гену, який контролює міграцію та клітинну проліферацію фібробластів. Pm є більш потужним мітогеном та міграційним фактором по відношенню до фібробластів, ніж тромбін. Pm у дозозалежний спосіб стимулює синтез ДНК у фібробластах легені миші. Такого не спостерігається у мишей, дефектних за геном рецептора PAR-1, та повністю блокується антитілами проти продукту експресії Cyr61 [25]. Також, Pm спри-

яв вивільненню протеїну Cug61 до культурального середовища або ЕЦМ, що робило його доступним для інших клітин. Сприяючи інфільтрації імунних клітин та контролюючи їхню активність, Pm бере активну участь в загоєнні ран, як на початку, так і на кінцевих етапах цього процесу [13].

Shen та ін. довели, що введення P<sub>g</sub> мутантним мишам з дефіцитом цього протеїну прискорює загоєння гострих ран та хронічних ран у мишей з СТЗ-індукованим цукровим діабетом. Встановлено, що у хронічних виразках шкіри діабетичних мишей має місце перманентна активація P<sub>g</sub>/P<sub>m</sub>-системи, з чим пов'язують перехід загоєння до хронічної форми [11]. Проте, механізми, за якими неадекватно функціонуюча протеолітична система бере участь у порушенні загоєння, залишаються невідомими. Можна припустити, що однією з причин дисфункції P<sub>g</sub>/P<sub>m</sub>-системи є локальний дефіцит функціонально активного зимогену, який частково інактивується через його підсилене глікозилування або активаторно-інгібіторний дисбаланс за гіперглікемії [26]. Не можна виключити, що значний внесок до хронізації загоєння роблять протеолітичні фрагменти P<sub>g</sub> – ангіостатини – які утворюються у пошкодженій тканині за хронічного ранового процесу у надмірній кількості внаслідок підвищеної протеолітичної активності, гальмуючи репаративний ангіогенез [27].

Близько 95% онкологічних хворих, які отримують променеви терапію, мають побічні ефекти у вигляді дефектів шкіри, часто розвиваються променеві рани та фіброз. Fallah та ін. показали, що введення P<sub>g</sub> підсилює загоєння променевих ран за рахунок плейотропної дії на експресію певних генів. Використовуючи секвенування РНК, автори виявили, що P<sub>g</sub> пригнічує експресію генів TLR, TNF, WNT та сигнальні шляхи, що контролюються TGF- $\beta$  – головним позитивним регулятором фіброзу. Також P<sub>g</sub> підсилював протизапальний ефект арахідонової кислоти, значно зменшуючи запалення в променевих ранах і покращуючи ремодельовання грануляційної тканини у порівнянні з результатами лікування, отриманими у групі плацебо. Крім того, P<sub>g</sub> індукував метаболічні зміни, включаючи зниження швидкості гліколізу. Важливо зауважити, що виявлені фактори, синтез яких регулює P<sub>g</sub>, являються профіброзними. Тому при променевих ранах з надмірним запаленням, P<sub>g</sub> здатний посилювати та переспрямувати процес загоєння таким чином, що їхній перебіг стає більш фізіологічним і не супроводжується утворенням вிரаженого фіброзного рубця [10].

Оскільки P<sub>g</sub> пригнічує продукування TGF- $\beta$  та деяких інших профібротичних факторів, ця обставина дозволила підтвердити важливість функціонування P<sub>g</sub> як модулятора утворення фіброзної тканини [28]. Автори іншої роботи (Okunishi та ін., 2011) запропонували використання P<sub>m</sub> як нового терапевтичного засобу для контролювання відкладання колагену фіброзними фібробластами [29].

Останні проведені дослідження показали позитивний результат використання фібринової матриці з імобілізованим P<sub>g</sub> для лікування ран у діабетичних мишей. Фібриновий матрикс, наповнений P<sub>g</sub>, застосований у діабетичних мишах на всю товщину значно підвищив швидкість закриття ран, ніж матеріал, який який не містив P<sub>g</sub> (контроль). Гістологічний аналіз продемонстрував покращену реепітелізацію та відкладення колагену в грануляційній тканині у мишей, які отримували фібриновий каркас, наповнений плазміногеном, порівняно з ненавантаженим P<sub>g</sub> фібриновим каркасом [30].

#### Висновки.

Оскільки у світі існує тенденція до старіння населення, збільшення захворюваності на цукровий діабет, онкологічні хвороби та захворювання серцево-судинної системи, проблема лікування хронічних виразок стає дедалі актуальнішою. Рани, які тривало не загоюються, надалі стають причиною інвалідності, погіршення якості життя та потребують значних затрат на лікування. Незважаючи на розробку та впровадження хірургічних та медикаментозних інноваційних стратегій, лікування гнійно-некротичних ран є тривалим і часто безуспішним. Нові методи лікування, ймовірно, еволюціонуватимуть від простого відновлення фізіологічного процесу до стимуляції регенераційної здатності пошкодженої тканини. Ця тенденція потенційно може задовольнити значні потреби в лікуванні хронічних ран. Результати попередніх досліджень показують, що система плазміноген/плазмін приймає участь в багатьох ланках процесу загоєння, і дослідження впливу її на механізми які розвиваються в хронічних ранах має великий практичний потенціал.

#### Перспективи подальших досліджень.

Вивчення впливу плазміногену на загоєння хронічних діабетичних ран у людей має практичний інтерес. Оскільки проведені дослідження та експерименти на мишах вказують на те, що P<sub>g</sub> може виявитися привабливим лікарським засобом в терапії хронічних ран.

## References / Література

- Westby MJ, Norman G, Watson REB, Cullum NA, Dumville JC. Protease activity as a prognostic factor for wound healing in complex wounds. *Wound Repair Regen.* 2020;28(5):631-644. DOI: [10.1111/wrr.12835](https://doi.org/10.1111/wrr.12835).
- Morton LM, Phillips TJ. Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and devaluation of chronic wounds. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016;74(4):589-605. DOI: [10.1016/j.jaad.2015.08.068](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.08.068).
- McCarty SM, Percival SL. Proteases and delayed wound healing. *Adv Wound Care.* 2013;2(8):438-447. DOI: [10.1089/wound.2012.0370](https://doi.org/10.1089/wound.2012.0370).
- Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: 169 biology, causes and approaches to care. *Adv. Skin Wound Care.* 2012;25(7):304-314. DOI: [10.1097/01.ASW.0000.416006.55218.d0](https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000.416006.55218.d0).
- Meaume S, Perez J, Rethore V, Sebbane G, Dompormartin A, Bressieux JM, et al. Management of chronic wounds with an innovative absorbent wound dressing. *J. Wound Care.* 2012;21(7):315-322. DOI: [10.12968/jowc.2012.21.7.315](https://doi.org/10.12968/jowc.2012.21.7.315).
- Greer JP. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12-th Edition. Vol. 1. Lippincott Williams & Wilkins; 2008. 574 p.
- Zhang L, Seiffert D, Fowler BJ, Jenkins GR, Thinnest TC, Loskutoff DJ, et al. Plasminogen has a broad extrahepatic distribution. *Thromb Haemost.* 2002 Mar;87(3):493-501.

8. Twining SS, Wilson PM, Ngamkitidechakul C. Extrahepatic synthesis of plasminogen in the human cornea is up-regulated by interleukins-1alpha and -1beta. *Biochem J.* 1999 May 1;339(3):705-12.
9. Saksela O, Rifkin B. Cell-Associated Plasminogen Activation: Regulation and Physiological Functions. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 1988;4:93-126. DOI: [10.1146/annurev.cb.04.110188.000521](https://doi.org/10.1146/annurev.cb.04.110188.000521).
10. Fallah M, Viklund E, Bäckman A, Brodén J, Lundskog B, Johansson M, et al. Plasminogen is a master regulator and a potential drug candidate for the healing of radiation wounds. *Cell Death Dis.* 2020;11(3):201. DOI: [10.1038/s41419-020-2397-0](https://doi.org/10.1038/s41419-020-2397-0).
11. Shen Y, Guo Y, Mikus P, Sulniute R, Wilczynska M, Ny T, et al. Plasminogen is a key proinflammatory regulator that accelerates the healing of acute and diabetic wounds. *Blood.* 2012;119(24):5879-5887. DOI: [10.1182/blood-2012-01-407825](https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-407825).
12. Schäfer BM, Maier K, Eickhoff U, Todd RF, Kramer MD. Plasminogen activation in healing human wounds. *Am J Pathol.* 1994;144(6):1269-1280.
13. Sulniute R, Shen Y, Guo YZ, Fallah M, Ahlskog N, Ny L, et al. Plasminogen is a critical regulator of cutaneous wound healing. *Thromb Haemost.* 2016;115(5):1001-1009. DOI: [10.1160/TH15-08-0653](https://doi.org/10.1160/TH15-08-0653).
14. Petrenko OM, Tyhomirov AA. Rivni anhiohennykh reholiatoriv i MMP-2, -9 aktyvnosti v ulser: opys vypadku. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal.* 2019;91(2):100-107[in Ukrainian].
15. Hirsch T, Spielmann M, Zuhaili B, Koehler T, Fossum M, Steinau HU, et al. Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model. *BMC Surg.* 2008;8:5. DOI: [10.1186/1471-2482-8-5](https://doi.org/10.1186/1471-2482-8-5).
16. Anton J, Horrevoets G. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *J. Haematology.* 2004;125(1):12-23. DOI: [10.1111/j.1365-2141.2004.04844.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2004.04844.x).
17. Rebalka IA, Raleigh MJ, D'Souza DM, Coleman SK, Rebalka AN, Hawke TJ. Inhibition of PAI-1 Via PAI-039 Improves Dermal Wound Closure in Diabetes. *Diabetes.* 2015;64(7):2593-2602. DOI: [10.2337/db14-1174](https://doi.org/10.2337/db14-1174).
18. Kolosovych IV, Hanol IV. Hemocoagulation factors of hemorrhagic complications in acute pancreatitis. *Fiziolohichnyy zhurnal.* 2022;68(1):56-61. DOI: [10.15407/fz68.01.056](https://doi.org/10.15407/fz68.01.056).
19. Kanno Y, Hirade K, Ishisaki A, Nakajima K, Suga H, Into T, et al. Lack of alpha2-antiplasmin improves cutaneous wound healing via over-released vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in wound lesions. *J Thromb Haemost.* 2006;4(7):1602-1610. DOI: [10.1111/j.1538-7836.2006.01978.x](https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.01978.x).
20. Romer J, Bugge TH, Pyke C, Lund LR, Flick MJ, Degen JL, et al. Impaired wound healing in mice with a disrupted plasminogen gene. *Nat Med.* 1996;2(3):287-292. DOI: [10.1038/nm0396-287](https://doi.org/10.1038/nm0396-287).
21. Roth D, Piekarek M, Paulsson M, Christ H, Bloch W, Krieg T, et al. Plasmin modulates vascular endothelial growth factor-A-mediated angiogenesis during wound repair. *Am J Pathol.* 2006;168(2):670-684. DOI: [10.2353/ajpath.2006.050372](https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050372).
22. Szabo I, Simon M Jr, Hunyadi J. Plasmin promotes keratinocyte migration and phagocytic-killing accompanied by suppression of cell proliferation which may facilitate re-epithelialization of wound beds. *Clin Dev Immunol.* 2004;11(3-4):233-240. DOI: [10.1080/17402520400001710](https://doi.org/10.1080/17402520400001710).
23. Eriksson PO, Li J, Ny T, Hellström S. Spontaneous development of otitis media in plasminogen-deficient mice. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006;296(7):501-509. DOI: [10.1016/j.ijmm.2006.04.002](https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.04.002).
24. Jacobson LK, Johnson MB, Dedhia RD, Niknam-Bienia S, Wong AK. Impaired wound healing after radiation therapy: a systematic review of pathogenesis and treatment. *JPRAS Open.* 2017;13:92-105.
25. Mandal SK, Rao LV, Tran TT, Pendurthi UR. A novel mechanism of plasmin-induced mitogenesis in fibroblasts. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):163-169. DOI: [10.1111/j.1538-7836.2004.01054.x](https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.01054.x).
26. Ajan RA, Gamlen T, Standeven KF, Mughal S, Hess K, Smith KA, et al. Diabetes is associated with posttranslational modifications in plasminogen resulting in reduced plasmin generation and enzyme-specific activity. *Blood.* 2013;122(1):134-142. DOI: [10.1182/blood-2013-04-494641](https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-494641).
27. Gabison E, Chang JH, Hernández-Quintela E, Javier J, Lu PC, Ye H, et al. Anti-angiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Experimental Eye Research.* 2004;78(3):579-589. DOI: [10.1016/j.exer.2003.09.005](https://doi.org/10.1016/j.exer.2003.09.005).
28. Fallah M, Viklund E, Bäckman A, Brodén J, Lundskog B, Johansson M, et al. Plasminogen is a master regulator and a potential drug candidate for the healing of radiation wounds. *Cell Death Dis.* 2020;11(3):201. DOI: [10.1038/s41419-020-2397-0](https://doi.org/10.1038/s41419-020-2397-0).
29. Kanno Y. The role of fibrinolytic regulators in vascular dysfunction of systemic sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):619. DOI: [10.3390/ijms20030619](https://doi.org/10.3390/ijms20030619).
30. Al Kayal T, Buscemi M, Cavallo A, Foffa I, Soldani G, Losi P. Plasminogen-Loaded Fibrin Scaffold as Drug Delivery System for Wound Healing Applications. *Pharmaceutics.* 2022;14(2):251. DOI: [10.3390/pharmaceutics14020251](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020251).

## РОЛЬ СИСТЕМИ ПЛАЗМІНОГЕН/ПЛАЗМІН У ЗАГОЄННІ РАН

Бадзюх С. В.

**Резюме.** Загоєння ран це багатоетапний процес, який залежить від злагодженої роботи складних біомолекулярних механізмів. Порушення регуляції загоєння, на одному з етапів, призводить до переходу рани від гострої до хронічної. Дисбаланс активаторно-інгібіторних протеолітичних систем вважається однією з найголовніших причин пролонгування загоєння. Здатність системи плазміноген/плазміну (Pg/Pm) проявляти низку плейотропних ефектів в ході процесів, які лежать в основі репарації тканин, характеризує її як головний регулятор загоєння (*“master regulator of wound healing”*). Дослідження показали, що плазміноген (Pg) накопичується в місці пошкодження тканин та перетворюється в плазмін (Pm) за допомогою протеази тканинного типу (tPA) або протеази урокіназного типу (uPA). Після активації Pm, забезпечує очищення рани від фібрину, нейтрофілів, залучається до активації факторів росту та матриксних металопротеїназ (ММР), і ремоделювання та формування нової сполучної тканини. Плазмін індукуює мітоз фібробластів та безпосередньо впливає на кератиноцити активуючи їхню міграцію. Після введення Pg мутантним мишам з дефіцитом цього протеїну прискорюється загоєння гострих ран, та хронічних ран у мишей з (СТЗ)-індукованим цукровим діабетом. Нанесення фібринового каркасу, наповненого плазміногеном, на всю товщину пошкодження у мишей з (СТЗ)-індукованим цукровим діабетом значно підвищило швидкість закриття ран, ніж каркас, який використовується як еталонний матеріал. Введення плазміногену підсилює загоєння променеви ран, цей ефект реалізується за рахунок плейотропної дії на експресію генів.

Лікування хронічних ран є тривалим, фінансова затратним, і часто безуспішним, незважаючи на розвиток хірургічних та медикаментозних інновацій. Захворюваність трофічних виразок різного генезу становить 0,1-1,5%, у 24% хворих рани не загоюються більше року. Виявлені властивості системи Pg/Pm активувати та регулювати репаративні процеси свідчать про великий терапевтичний потенціал під час лікування ран. Pg може бути використаний як нова терапевтична стратегія для лікування хронічних ран різного патогенезу.

**Ключові слова:** хронічні рани, загоєння, плазміноген, плазмін.

### THE ROLE OF THE PLASMINOGEN/PLASMIN SYSTEM IN WOUND HEALING

Badziukh S. V.

**Abstract.** Wound healing is a multistage process that depends on the coordinated work of complex bimolecular mechanisms. Violation of the regulation of healing, at one of the stages, leads to the transition of the wound from acute to chronic. An imbalance of activator-inhibitor proteolytic systems is considered one of the main reasons for prolonging healing. The ability of the plasminogen/plasmin (Pg/Pm) system to exert a number of pleiotropic effects during the processes underlying tissue repair characterizes it as the master regulator of wound healing. Studies have shown that plasminogen (Pg) accumulates at the site of tissue damage and is converted to plasmin (Pm) by tissue-type protease (tPA) or urokinase-type protease (uPA). After activation of Pm, it provides cleaning of the wound from fibrin, neutrophils, is involved in the activation of growth factors and matrix metalloproteinases (MMP), and remodeling and formation of new connective tissue. Plasmin induces mitosis of fibroblasts and directly affects keratinocytes, activating their migration. After administration of Pg to mutant mice deficient in this protein, the healing of acute wounds and chronic wounds in mice with (STZ)-induced diabetes is accelerated. Full-thickness application of a plasminogen-loaded fibrin scaffold in mice with (STZ)-induced diabetes significantly increased the rate of wound closure compared to the scaffold used as a reference material. The introduction of plasminogen enhances the healing of radiation wounds, this effect is realized due to the pleiotropic effect on gene expression.

Treatment of chronic wounds is long, expensive, and often unsuccessful, despite the development of surgical and drug innovations. The incidence of trophic ulcers of various genesis is 0.1-1.5%, in 24% of patients, the wounds do not heal for more than a year. The revealed properties of the Pg/Pm system to activate and regulate reparative processes indicate a great therapeutic potential in the treatment of wounds. Pg can be used as a new therapeutic strategy for the treatment of chronic wounds of different pathogenesis.

**Key words:** chronic wounds, healing, plasminogen, plasmin

### ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Badziukh S. V.: [0000-0002-3175-1208](https://orcid.org/0000-0002-3175-1208)<sup>ABCDEF</sup>

---

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Badziukh Serhiy Viktorovych / Бадзюх Сергій Вікторович

Bogomolets National Medical University / Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

Ukraine, 01601, Kyiv, 13 T. Shevchenko Boul. / Адреса: Україна, 01601, м. Київ, бульвар Т. Шевченка 13

Tel.: +380632587273 / Тел.: +380632587273

E-mail: [serhiybadzyuh@ukr.net](mailto:serhiybadzyuh@ukr.net)

---

**A** – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

*Received 04.06.2022 / Стаття надійшла 04.06.2022 року*  
*Accepted 13.11.2022 / Стаття прийнята до друку 13.11.2022 року*