

Wybrane molekularne aspekty procesu fibroproliferacyjnego w przebiegu keloidów

Some molecular aspects of the fibroproliferative process in keloids

Paweł Antończak, Magdalena Jurzak, Katarzyna Adamczyk, Agnieszka Garnarczyk

Zakład Kosmetologii Katedry Kosmetologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Przeł Dermatol 2015, 102, 253–262
DOI: 10.5114/dr.2015.51929

SŁOWA KLUCZOWE:

patofizjologia, etiopatogeneza, keloidy, procesy fibroproliferacyjne.

KEY WORDS:

pathophysiology, etiology, keloids, fibroproliferative processes.

ADRES DO KORESPONDENCJI:

Paweł Antończak
Zakład Kosmetologii
Katedra Kosmetologii
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Kasztanowa 3
41-200 Sosnowiec
tel.: +48 32 269 98 35
faks: +48 32 269 98 34
e-mail: pantonczak@sum.edu.pl

STRESZCZENIE

Procesy naprawcze (reperatywne) uszkodzonych tkanek należą do podstawowych procesów biologicznych zapewniających utrzymanie homeostazy organizmu. Zasadniczo obejmują fazę zapalną, proliferacyjną oraz przebudowy. Końcowym efektem gojenia się uszkodzonych tkanek jest powstanie blizny. Nieprawidłowości w przebiegu gojenia się ran mogą być przyczyną tworzenia keloidów (bliznowców). W patofizjologii keloidów obserwuje się zarówno nieprawidłowości w migracji, proliferacji i apoptozie komórek, jak i w syntezie oraz sekrecji białek, cytokin, enzymów proteolitycznych degradujących składniki macierzy pozakomórkowej, a także ich inhibitorów. Dotychczasowe stosowane terapie nie przynoszą zadowalających efektów kosmetycznych. Obecnie prowadzone badania skupiają się na poszukiwaniu metod bezpośredniego hamowania procesu fibroproliferacyjnego poprzez modulowanie ekspresji cytokin, hamowanie proliferacji fibroblastów oraz regulowanie biosyntezy i degradacji składników macierzy pozakomórkowej.

ABSTRACT

Reparation of damaged tissues is an essential biological process that ensures maintenance of homeostasis. Basically it includes phases of inflammation, proliferation and remodeling. The result of healing of damaged tissues is scar formation. Abnormalities in the course of wound healing may lead to keloid formation. The pathophysiology of keloids is characterized by improper migration, proliferation and apoptosis of cells as well as imbalanced synthesis and secretion of proteins, cytokines, proteolytic enzymes and their inhibitors. To date, applied therapeutic methods do not lead to satisfactory cosmetic results of the treatment. Current research focuses on developing methods for direct inhibition of the fibroproliferative process, mainly through modulation of cytokine expression and in consequence suppression of fibroblast proliferation and balancing of synthesis and degradation of extracellular matrix components.

WPROWADZENIE

Keloidy (bliznowce) to nieprawidłowe blizny klasyfikowane jako łagodne nowotwory tkanki łącznej, bez objawów zezłośliwienia. Zaliczane są do chorób fibroproliferacyjnych, czyli chorób przebiegających z włóknieniem [1, 2]. W odróżnieniu od blizn przerostowych, które z reguły nie przekraczają obszarów zranienia i mają tendencję do samoistnych remisji, bliznowiec może znacznie wykroczyć poza pierwotny obszar uszkodzenia, a samoistne cofanie się zmian jest obserwowane bardzo rzadko [3]. Zmiany występują w postaci guzowatych, twardych tworów o wzmożonej spoistości oraz gładkiej i lśniącej powierzchni, często z obecnością wypustek przypominających szczypce kraba [1, 2, 4].

Etiopatogeneza keloidów nie jest w pełni znana. Zmiany te pojawiają się jako następstwo nieprawidłowego gojenia się ran, jednak istotne jest, że występują tylko u niektórych osób. Keloidy rozwijają się najczęściej w następstwie nieprawidłowego gojenia się ran ciętych, jednak nierzadkie są przypadki, gdy bliznowiec powstaje w miejscu po iniekcji czy po ukąszeniu owada. Szczególnie często keloidy tworzą się w miejscach o wzmożonym napięciu skóry, takich jak podbródek, szyja, okolica mostka, ramiona, obszary skóry nad stawami czy płatki uszu. Przypuszcza się, że w rozwoju keloidów ważną rolę odgrywają czynniki mechaniczne. Zmiany pojawiają się po upływie kilkunastu tygodni od urazu, a w niektórych przypadkach po dłuższym czasie od powstania uszkodzenia skóry. W przebiegu keloidów charakterystyczny jest rozrost zmian i uczucie świądu, możliwe są także dolegliwości bólowe [4, 5].

Początkowo w obrazie histopatologicznym bliznowców obserwuje się dużą liczbę fibroblastów i komórek zapalnych oraz nagromadzenie składników macierzy pozakomórkowej tkanki łącznej. Nowo powstała tkanka, podobnie jak prawidłowa ziarnina, jest silnie unaczyniona [4]. Dojrzały keloid charakteryzuje się mniejszą liczbą komórek i naczyń krwionośnych, a jego masę stanowi zbita tkanka łączna, w której widoczne są szerokie wiązki zhialinizowanego kolagenu. Podobnie jak w bliznach przerostowych, w obrębie keloidów nie obserwuje się włókien sprężystych i przydatków skóry. Naskórek na powierzchni keloidu jest prawidłowy lub wykazuje cechy atrofii [4, 5]. Proces formowania keloidu postępuje od części centralnej, gdzie stopniowo obserwuje się regresję fibroproliferacji, w kierunku obwodu zmiany. Charakteryzuje się on aktywnym wzrostem [6].

Na podstawie obserwacji klinicznych i wywiadów środowiskowych wyodrębniono dotychczas kilka czynników, które mają znaczenie w rozwoju choroby. Należą do nich: uwarunkowania genetycz-

ne, immunologiczne i hormonalne. Inne brane pod uwagę mechanizmy to upośledzenie zdolności komórek do apoptozy oraz nieprawidłowa ekspresja niektórych genów i białek kluczowych w procesie gojenia ran [6–10]. W badaniach na poziomie komórkowym i molekularnym wykazano zwiększoną proliferację fibroblastów w początkowej fazie tworzenia keloidu oraz ich oporność na apoptozę w fazie remodelowania blizny. Keloidy charakteryzują również zaburzenia równowagi między procesami anabolicznymi i katabolicznymi, polegające m.in. na zachwianiu proporcji procesów biosyntezy i wydzielania enzymów proteolitycznych – proteaz macierzowych, a także ich specyficznych i niespecyficznych inhibitorów [11–13].

CYTOKINY I CZYNNIKI WZROSTU W GOJENIU RAN I PATOGENEZIE KELOIDÓW

Gojenie ran jest złożonym procesem obejmującym fazę zapalną, proliferacyjną i przebudowy. Poszczególne fazy gojenia zająbiają się, a ich przebieg zależy od populacji komórek, stanu ich aktywacji i charakteru ich interakcji z poszczególnymi częściami łożyska rany. Rozwój odpowiedzi na uszkodzenie tkanek regulują cytokiny produkowane przez pobudzone komórki. Do ważnych cytokin w procesie gojenia należą m.in. transformujący czynnik wzrostu β (ang. *transforming growth factor* β – TGF- β), czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. *connective tissue growth factor* – CTGF), płytkopochodny czynnik wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor* – PDGF), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. *vascular-endothelial growth factor* – VEGF), insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. *insuline-like growth factor* – IGF), czynnik wzrostu naskórka (ang. *epidermal growth factor* – EGF), czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor* α – TNF- α), płytkopochodny czynnik wzrostu komórek śródbłonna (ang. *platelet derived-endothelial cell growth factor* – PD-ECGF), kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *acid fibroblast growth factor* – aFGF), zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *basic fibroblast growth factor* – bFGF), interferon β (ang. *interferon* β – INF- β) oraz czynnik wzrostu nerwów (ang. *nerve growth factor* – NGF) (tab. 1) [14].

Zaburzenie wydzielania cytokin przez komórki w procesie gojenia ran jest jednym z podstawowych czynników w rozwoju keloidów. W keloidach obserwuje się zwiększoną ekspresję TGF- β , PDGF, VEGF, TNF- α , CTGF, IGF, INF- β , NGF oraz IL-6 i IL-13 [7, 15–18]. Za istotne cytokiny w patogenezie włóknienia uznaje się transformujący czynnik wzrostu β – izoformy TGF- β 1 i TGF- β 2 – oraz CTGF [11, 18, 19].

Tabela 1. Etapy gojenia się rany i główne cytokiny regulatorowe [14]

Table 1. Stages of wound healing and key regulatory cytokines [14]

Etapy gojenia się rany	Zachodzące procesy	Komórki	Cytokiny
faza zapalna	tworzenie się skrzepu (przywrócenie hemostazy)	komórki endotelialne, płytki krwi	czynniki chemotaktyczne
	oczyszczenie rany z uszkodzonych komórek oraz drobnoustrojów	makrofagi, neutrofile	PDGF, TGF- α , TGF- β
	wydzielanie cytokin pobudzających angiogenezę, naskórkowanie i odbudowę macierzy pozakomórkowej skóry właściwej	płytki krwi, komórki endotelialne, makrofagi	TGF- β , PDGF, TGF- α , IL-1
faza proliferacyjna	naskórkowanie (proliferaacja i migracja keratynocytów)	keratynocyty, makrofagi, skórne komórki mezenchymalne	czynniki rodziny EGF, zwłaszcza TGF- α , TGF- β i HB-EGF, czynniki rodziny FGF, w szczególności KGF
	formowanie ziarniny: – fibroplazja (namnażanie i migracja fibroblastów oraz synteza składników ECM) – neoangiogeneza (migracja i namnażanie się komórek endotelialnych – formowanie nowych naczyń krwionośnych)	– płytki krwi, makrofagi, fibroblasty – makrofagi	– PDGF, TGF- α , TGF- β i HB-EGF, czynniki rodziny FGF – aFGF, bFGF, VEGF, TGF- α , TGF- β , TNF- α , PF-4, IL-8, PDGF
	stopniowa przebudowa nowo syntezowanej macierzy pozakomórkowej (degradacja kolagenu przez metaloproteinazy syntezowane przez makrofagi, keratynocyty i fibroblasty oraz jej równoległa synteza przez fibroblasty)	makrofagi, keratynocyty i fibroblasty	TGF- β , PDGF, CTGF
faza remodelowania	obkurczanie nowo syntezowanej macierzy pozakomórkowej prowadzące do utworzenia blizny	fibroblasty o fenotypie miofibroblastów	TGF- β , CTGF, PDGF

Czynnik wzrostu tkanki łącznej

Czynnik wzrostu tkanki łącznej jest cytokiną należącą do białek rodziny CCN (CTGF/cyr-61/*nov family*). Odgrywa on ważną rolę zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych [20]. Cytokina ta stymuluje proliferację komórek oraz ma właściwości profibrotyczne, czyli promujące włóknienie. Pełni funkcję czynnika podtrzymującego procesy fibroproliferacyjne indukowane przez TGF- β [21–23]. Nadmierna ekspresja CTGF powoduje zmianę fenotypu komórek na tzw. fibrotyczny. Wówczas procesy fibroproliferacyjne stają się nadrzędne i w efekcie produkowana jest nadmierna ilość kolagenu, fibronektyny i dekoryny. Czynniki wzrostu tkanki łącznej wpływa także na aktywność metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (ang. *matrix metalloproteinase* – MMPs) i tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases* – TIMPs) [20].

Regulacja ekspresji CTGF przez TGF- β przebiega na różnych szlakach sygnalizacyjnych i na różnych etapach biosyntezy. Trzy główne szlaki sygnalizacyjne są charakterystyczne dla TGF- β 1, a czwarty

dla TGF- β 2 [24]. TGF- β 1 oddziałuje przede wszystkim poprzez białka Smad oraz przyłączenie się czynnika transkrypcyjnego Ets-1. Kolejną drogą sygnalizacyjną jest pobudzenie za pomocą endoteliny 1 regionu T β RE znajdującego się w odcinku promotorowym genu [24]. Innym mechanizmem prowadzącym do pobudzenia ekspresji genu CTGF jest aktywacja kinaz JNK, które odpowiadają za fosorylację podjednostki c-jun czynnika transkrypcyjnego AP-1 i prowadzą do związania go z miejscem AP-1 występującym w rejonie promotorowym genu CTGF [22]. TGF- β 2 uruchamia natomiast kinazę C (PKC), a następnie kaskadę kinaz ras/MEK/ERK, które wraz z czynnikiem Sp-1 inicjują ekspresję CTGF [22, 24].

W keloidach wykazano wyższą ekspresję mRNA CTGF niż w bliznach przerostowych i skórze prawidłowej [25, 26]. Analiza przestrzenna ekspresji CTGF w obrębie keloidów wykazała jego wyższą ekspresję w obszarach brzegowych charakteryzujących się ekspansywnym procesem fibroproliferacyjnym [26]. Podwyższona ekspresja CTGF w keloidach jest ściśle skorelowana z nadmierną produkcją kolagenu [25]. Stymulujący wpływ CTGF na syntezę kolagenu

w keloidach potwierdziły badania *in vitro*. Stwierdzono, że wprowadzenie do fibroblastów keloidowych antysensownych oligonukleotydów CTGF (ASODN) powoduje zahamowanie syntezy kolagenu. Badania te wykazały także, że zahamowanie ekspresji CTGF hamuje proliferację komórek i indukuje ich apoptozę [27]. W badaniach prowadzonych przez zespół Khoo stwierdzono dodatkowo, że CTGF w obrębie keloidów ulega ekspresji nie tylko w fibroblastach, lecz także w keratynocytach, co sugeruje, że na rozwój keloidów istotny wpływ mają także czynniki wydzielane przez komórki naskórka [28].

Transformujący czynnik wzrostu β

Rodzina cytokin TGF- β obejmuje ponad 30 białek o podobnej strukturze [29]. TGF- β jest pleiotropową cytokiną biorącą udział w procesie proliferacji, różnicowaniu, wzroście i migracji komórek, a także chemotaksji i apoptozie. Odgrywa także istotną rolę w inicjacji i terminacji procesów naprawczych [30, 31]. Ponadto jest jednym z podstawowych czynników regulujących proces biosyntezy i degradacji składników macierzy pozakomórkowej (ang. *extracellular matrix protein* - ECM) [32]. Źródłem tej cytokiny jest większość komórek prawidłowych. Jest ona syntetyzowana jako białko prekursorowe, które po enzymatycznej modyfikacji występuje w postaci małego lub dużego kompleksu. W przekazywanie sygnału z udziałem TGF- β zaangażowane są 3 typy receptorów błonowych (TGF- β R I-III) - kinaz serynowo-treoninowych znajdujących się na większości komórek [33].

U człowieka TGF- β występuje w trzech izoformach - TGF- β 1, TGF- β 2 i TGF- β 3, kodowanych przez różne geny oraz różniących się funkcjami biologicznymi w organizmie [31]. Wszystkie izoformy tej cytokiny występują w komórkach skóry i uczestniczą w procesach naprawczych. TGF- β 1 i TGF- β 2 pobudzają biosyntezę kolagenu podczas gojenia, natomiast TGF- β 3 prawdopodobnie działa hamująco - wyniki badań nie są jednoznaczne [21, 34]. Dla procesu formowania się keloidów charakterystyczna jest nie tylko nadekspresja TGF- β 1, lecz także większa ilość receptorów dla tej cytokiny na błonie komórkowej fibroblastów keloidowych w porównaniu z fibroblastami prawidłowymi, co może mieć istotne znaczenie na wczesnym etapie włóknienia. Nadmierna ekspresja TGF- β pobudza biosyntezę białek macierzy pozakomórkowej, jednocześnie zmniejszając ekspresję enzymów degradujących białka ECM (m.in. kolagenaz i żelatynaz) oraz zwiększając produkcję białek mających za zadanie hamowanie ich aktywności (PAI-1, 2 i TIMPs) [33]. TGF- β jest także jednym z czynników odpowiadających za oporność fibroblastów bliznowca na apoptozę [34]. Ponadto TGF- β indukuje różnicowanie fibroblastów do reaktywnych fibroblastów

(miofibroblastów) poprzez stymulowanie ekspresji α aktyny mięśni gładkich (ang. *α -smooth muscle actin* - α -SMA) i białka aktywującego fibroblasty α (ang. *fibroblast activation protein α* - FAP- α). Transformacja fibroblastów α -SMA⁻ w miofibroblasty α -SMA⁺ istotnie wpływa na migrację komórek. Ponadto ekspresja FAP- α w czasie gojenia ran ułatwia fibroblastom przemieszczanie się w ECM poprzez jej enzymatyczną degradację [35, 36].

UDZIAŁ ENZYMÓW PROTEOLITYCZNYCH W PROCESIE GOJENIA I FORMOWANIA KELOIDÓW

Złożony proces naprawy tkanek po zadziałaniu czynnika uszkadzającego wymaga szybkiego zamknięcia rany poprzez wytworzenie skrzepu, a następnie migracji z tkanek sąsiadujących w głąb rany komórek, których zadaniem jest odtworzenie uszkodzonej tkanki i utworzenie blizny. Zarówno migracja komórek, jak i odtwarzanie struktury uszkodzonych tkanek wymaga aktywności enzymów proteolitycznych. Nowo syntezowana ECM składająca się głównie z kwasu hialuronowego i fibronektyny stanowi pierwotną macierz umożliwiającą migrację i proliferację komórek, jednak jej skład nie zapewnia efektywnej wytrzymałości na działanie bodźców środowiskowych. Proces dojrzewania blizny polega na przebudowie nowo powstałej ECM w celu nadania jej maksymalnej wytrzymałości na działanie czynników mechanicznych. Remodelowanie blizny wymaga usunięcia części składników ECM i polega na ich proteolitycznej degradacji przez proteazy [14].

Proteazy są różnorodną grupą enzymów, do której należą proteazy serynowe, treoninowe, aspartylowe, cysteinowe oraz MMPs. Stwierdzono, że w tworzeniu keloidów istotną rolę odgrywają MMPs. Ze względu na swoistość substratową i budowę chemiczną MMPs dzieli się na kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny, enamielizyny, metaloelastazy i metaloproteinazy błonowe. Blisko spokrewnionymi enzymami z MMPs są enzymy z rodziny adamielizyn (ang. *disintegrin and metalloproteinases* - ADAMs) [37, 38]. Główną funkcją MMPs jest degradowanie składników ECM - białek i glikoprotein macierzy pozakomórkowej i/lub błony podstawnej, takich jak kolagen, elastyna, laminina, proteoglikany, agrekany, entaktyna, tenascyna czy fibronektyna, a swoistość substratową metaloproteinaz determinują głównie miejsce aktywne enzymu (tab. 2) [37, 39-41].

Aktywność MMPs jest regulowana na wielu poziomach w procesach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. Zależy ona przede wszystkim od ekspresji genów sterowanej przez liczne cytokiny i czynniki wzrostu, stabilizacji bądź destabilizacji ich mRNA,

modyfikacji potranslacyjnych (glikozylacji), szybkości sekrecji z komórki, aktywacji proenzymów, a także hamowania ich aktywności przez specyficzne tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) i niespecyficzne inhibitory, takie jak α 2-makroglobulina, α 1-antytrypsyna, inhibitor plazminogenu 1 [42–44]. Ostatnio stwierdzono, że proteolityczna aktywność MMPs ma zasadnicze znaczenie dla migracji komórek w macierzy pozakomórkowej, co może mieć duże znaczenie w formowaniu keloidów i wykraczaniu tworzącego się guza poza obszar rany [45]. Jednak funkcja MMPs nie obejmuje wyłącznie przebudowy ECM. Proteolityczna degradacja składników ECM, a także wielu innych substratów nienależących do białek macierzy pozakomórkowej odgrywa ważną rolę w przekazywaniu sygnałów z ECM do komór-

ki. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej ze względu na lokalizację degradują liczne receptory na powierzchni komórek. Hydrolizują także cząsteczki uwalniane z błony komórkowej, przez co mogą aktywować i inaktywować wiele czynników wzrostu, cytokin i chemokin. Zdegradowane składniki ECM są także ligandami komórkowych receptorów adhezyjnych i integrzyn, które uczestniczą w przekazywaniu sygnałów do wnętrza komórek. Zatem MMPs kontrolują wiele istotnych procesów komórkowych, takich jak proliferacja, migracja, dyferencjacja, adhezja i apoptoza [44].

W keloidach charakterystyczne są zmniejszenie aktywności kolagenaz (MMP-1, MMP-8, MMP-13) i wzrost aktywności innych metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9, MMP-14) oraz ich specyficznych (TIMP-1,

Tabela 2. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej i ich substraty [39–41]

Table 2. Matrix metalloproteinases and their substrates [39–41]

MMP	Nazwa zwyczajowa	Substraty
MMP-1	kolagenaza śródmiąższowa (1)	kolagen typu I, II, III, VII, VIII, X, żelatyna, IL-1 β , MMP-2, MMP-9
MMP-2	żelatynaza A	kolagen typu I, IV, V, VII, X, XI, XIV, żelatyna, elastyna, laminina
MMP-3	stromielizyna 1	kolagen typu II, IV, IX, X, proteoglikany, fibronektyna, laminina, elastyna, witronektyna, plazminogen, fibrynogen, antytrombina III, pro-MMP-1, pro-MMP-8, pro-MMP-9
MMP-7	matrylizyna 1, metaloendopeptydaza	kolagen typu IV, glikoproteiny, żelatyna
MMP-8	kolagenaza neutrofilowa (2)	kolagen typu I, II, III, V, VII, VIII, X, żelatyna, laminina, pro-MMP-8
MMP-9	żelatynaza B	kolagen typu IV, V, VII, X, XIV, żelatyna, fibronektyna, elastyna, laminina
MMP-10	stromielizyna 2	kolagen typu III, IV, V, fibronektyna, laminina, pro-MMP-1, pro-MMP-8, pro-MMP-10
MMP-11	stromielizyna 3	laminina
MMP-12	metaloelastaza makrofagowa	elastyna, plazminogen
MMP-13	kolagenaza 1	kolagen typu I, II, III, IV, V, VII, VIII, IX, X, XI, żelatyna, aktywator plazminogenu 2, pro-MMP-9, pro-MMP-13, fibronektyna, laminina
MMP-14	MT1-MMP	kolagen typu I, II, III, żelatyna, laminina, fibronektyna, fibryna, pro-MMP-2, -13
MMP-15	MT2-MMP	kolagen typu I, II, III, żelatyna, laminina, fibronektyna, fibryna, pro-MMP-2, -13
MMP-16	MT3-MMP	kolagen typu I, III, żelatyna, laminina, fibronektyna, pro-MMP-2, -13
MMP-17	MT4-MMP	żelatyna, fibronektyna, fibryna
MMP-19	RAS1-1	kolagen typu I, IV, żelatyna, agrekany
MMP-20	enamelizyna	amelagenina, agrekany
MMP-21	–	α ₁ -antytrypsyna
MMP-23	CA-MMP	żelatyna
MMP-24	MT5-MMP	żelatyna, fibronektyna, pro-MMP-2, -13
MMP-25	MT6-MMP	kolagen typu IV, żelatyna, fibryna, fibronektyna, pro-MMP-2
MMP-26	matrylizyna 2	kolagen typu IV, żelatyna
MMP-28	epilizyna	kazeina

TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4) i niespecyficznych inhibitorów (α 2-makroglobuliny, α 1-antytrypsyny, inhibitora plazminogenu 1) [45–54]. Szczególne znaczenie w formowaniu keloidów mają kolagenaza 1 (MMP-1) i żelatynazy (MMP-2 i MMP-9). Kolagenaza 1 należy do MMPs, które selektywnie degradują kolagen. Zmniejszona ekspresja MMP-1 odgrywa istotną rolę w patogenezie nieprawidłowej przebudowy ECM (nadmiernej akumulacji kolagenu typu I) w keloidach. Uważa się też, że MMP-1 degradująca kolagen wraz z MMP-2 degradującą kolagen i żelatynę wpływają na zwiększenie aktywności migracyjnej fibroblastów poza obszar pierwotnego uszkodzenia i mogą być przyczyną obserwowanego w obrazie klinicznym rozrostu zmian [11, 30]. Żelatynaza B (MMP-9) ma podstawowe znaczenie w początkowej fazie gojenia ran, w której zaangażowana jest w degradację kwasu hialuronowego, fibronektyny, kolagenu typu IV, V, elastyny, żelatyny i lamininy [37]. W pierwszej fazie rozwoju keloidów obserwuje się zwiększoną aktywność tego enzymu, natomiast w późniejszym przebiegu bliznowców ekspresja MMP-9 ulega obniżeniu. Żelatynaza A (MMP-2) ma natomiast szczególne znaczenie w fazie przebudowy procesu gojenia ran [11] i ulega nadekspresji w keloidach [55]. Białkowymi substratami MMP-2 są m.in. kolagen typu I, IV, V, VII, X, żelatyna i elastyna [37]. Dzięki zdolności wiązania wolnej MMP-2 i MMP-9 z niektórymi składnikami błony komórkowej może dochodzić z ich udziałem do okołokomórkowej proteolizy. Ważną rolę w aktywności MMP-2 na powierzchni błony komórkowej odgrywają cząsteczka MT1-MMP (MMP-14) oraz TIMP-2, które wspólnie tworzą kompleks związany z błoną komórkową [56]. W aktywności MMP-2, poprzez wiązanie z powierzchnią błony komórkowej, może także brać udział integryna $\alpha_v\beta_3$ [57]. MMP-9 może się natomiast wiązać z błoną komórkową za pośrednictwem powierzchniowego receptora CD44 [58]. Żelatynazy dzięki zdolności koncentracji wokół błony komórkowej nie tylko biorą bezpośredni udział w niszczeniu fizycznej bariery, jaką stanowią składniki ECM, lecz także mogą uczestniczyć w uwalnianiu, degradacji, aktywacji lub inaktywacji biologicznie aktywnych cząsteczek, niebędących składnikami ECM [44]. W wyniku degradacji dekoryny, w której bierze udział m.in. MMP-2, następuje uwolnienie TGF- β , jednego z kluczowych czynników wzrostu w etiopatogenezie chorób fibroproliferacyjnych. Wykazano również, że zarówno MMP-2, jak i MMP-9 mogą aktywować proTGF- β [58, 59]. Ponadto TGF- β jest czynnikiem, który stymuluje ekspresję MMP-2 i MMP-9 aktywujących jego prekursorową formę, a także genu FAP- α , natomiast poprzez szlak zależny od białek Smad 3 i 4 pośrednio hamuje ekspresję MMP-1 [36, 60, 61].

Stosunkowo niedawno odkrytym białkiem enzymatycznym zaangażowanym w etiopatogenezę keloidów jest wspomniany wyżej FAP- α , nazywany także seprazą (ang. *surface expressed protease*). Należy on do typu II integralnych białek błonowych, podrodziny S9B postprolilowych aminopeptydaz dipeptylowych (dipeptylopeptydaz postprolilowych) peptydaz serynowych. Do podrodziny tej, oprócz FAP-a/seprazy, należy także dipeptylopeptydaza IV (DPPIV) o podobnej strukturze do FAP- α [42, 43]. Peptydazy te specyficznie degradują makrocząsteczki zawierające prolinę [62]. Glikozylowana forma FAP- α wykazuje zarówno aktywność postprolilowej peptydazy dipeptylowej, jak i aktywność żelatynolityczną, podczas gdy forma nieglikozylowana nie ma żadnej aktywności [63]. DPPIV charakteryzuje się aktywnością żelatynolityczną [24]. Aktywne FAP- α jest homodimerem o masie cząsteczkowej 170 kDa, w skład którego wchodzi dwie podjednostki, każda o masie cząsteczkowej 97 kDa. FAP- α może także tworzyć heteromeryczny aktywny kompleks enzymatyczny z DPPIV. Oba kompleksy enzymatyczne mogą brać udział w proteolizie składników ECM [64].

W warunkach fizjologicznych ekspresja FAP- α występuje w prawidłowych płodowych tkankach mezenchymatycznych i podczas gojenia tkanek. Prawidłowe komórki tkanek osób dorosłych nie wykazują ekspresji tego białka [43]. Ekspresja FAP- α charakteryzuje reaktywne fibroblasty zrębu. Aktywacja fibroblastów i transformacja w reaktywne fibroblasty jest zaangażowana zarówno w proces gojenia, jak i włóknienie tkanek i narządów [65]. FAP- α i DPPIV ulegają ekspresji w keloidach i sugeruje się, że mogą stanowić marker w rozpoznaniu bliznowców i ich różnicowaniu z bliznami hipertroficznymi [65].

Przypuszcza się, że FAP- α i DPPIV mogą mieć istotne znaczenie w ekspansywnym wzroście i progresji keloidów oraz że mechanizm inwazji fibroblastów keloidowych może być podobny do inwazji innych komórek nowotworowych [65]. FAP- α jest związany z wypustkami błonowymi komórek nowotworowych, zwanymi inwadopodiami, i ułatwia inwazję komórek do macierzy pozakomórkowej poprzez degradację jej składników, takich jak kolagen typu I i IV, fibronektyna i laminina [66, 67]. Działanie biologiczne FAP- α wiąże się także z innymi enzymami proteolitycznymi poprzez lokalizację na inwadopodiach ludzkich komórek nowotworowych. FAP- α może wchodzić w interakcje z tymi proteazami i ich receptorami [66, 68, 69].

PRZEDŁUŻONA FAZA ZAPALNA W PATOFIZJOLOGII KELOIDÓW

Przedłużenie fazy zapalnej może mieć dodatkowe znaczenie w patofizjologii keloidów. Uważa się, że

jej wydłużenie może podtrzymywać procesy fibroproliferacyjne. W chorobach fibroproliferacyjnych faza zapalna najczęściej poprzedza włóknienie lub procesy te przebiegają równolegle. Syntezowane i wydzielane mediatory stanu zapalnego odgrywają istotną rolę w regulacji proliferacji komórek, aktywacji fibroblastów i ich transformacji do reaktywnych fibroblastów oraz w metabolizmie składników macierzy pozakomórkowej, głównie kolagenu typu I. Obecnie sugeruje się, że również wzajemne proporcje pomiędzy subpopulacjami limfocytów T pomocniczych w fazie zapalnej warunkują przebieg gojenia i możliwość tworzenia keloidów [70]. Odpowiedź immunologiczna z przewagą limfocytów Th2 i związana z nią ekspresja takich cytokin, jak IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13, stymuluje fibrogenezę w przeciwieństwie do odpowiedzi immunologicznej z dominacją limfocytów Th1 wydzielających IFN- γ oraz IL-12 działających hamująco na procesy fibroproliferacyjne [71].

METODY LECZENIA KELOIDÓW

Do najczęściej stosowanych metod leczenia keloidów należą: chirurgiczne wycięcie zmiany, leczenie glikokortykosteroidami w formie iniekcji do keloidu oraz stosowanie opatrunków okluzyjnych. Wyniki chirurgicznego usunięcia keloidów są najczęściej niezadowolające. Bliznowce po wycięciu często nawracają i mają większe nasilenie [5]. Glikokortykosteroidy podawane w głąb keloidu za pomocą iniekcji zmniejszają proliferację fibroblastów oraz hamują syntezę kolagenu, glikozaminoglikanów i cytokin prozapalnych. Terapia umożliwia ograniczenie wzrostu blizny, jej zmiękczenie i wygładzenie, ale nie prowadzi do jej zaniku, więc efekt kosmetyczny leczenia jest dla wielu pacjentów mało zadowolający. Zdecydowanie lepsze wyniki uzyskuje się, gdy glikokortykosteroidy są podawane po wycięciu keloidu. Niestety długotrwałe podawanie glikokortykosteroidów wiąże się z ryzykiem powstania w miejscach iniekcji zmian hipo- lub hiperpigmentacyjnych i prowadzi do atrofii tkanek [72]. Mechanizm działania opatrunków okluzyjnych (np. żele lub plastry silikonowe) nie został do końca wyjaśniony. Stwierdzono, że keloidy pod opatrunkiem silikonowym są lepiej uwodnione i charakteryzują się większym ładunkiem elektrostatycznym. Stosowanie okluzji pozwala na redukcję spójności i rozmiaru keloidu, a także łagodzi świąd i bolesność [72, 73].

Do metod fizycznych stosowanych w leczeniu keloidów należą krioterapia, laseroterapia i terapia uciskowa [74]. W odpowiedzi na niską temperaturę w keloidzie dochodzi do uszkodzenia włókniczek krwionośnych oraz tworzenia kryształów wewnątrzkomórkowych, co powoduje nekrozę komórek. Po serii zabiegów krioterapeutycznych na-

stępuje stopniowe spłaszczenie powierzchni keloidu i redukcja jego rozmiarów, a nawet całkowity zanik blizny. Wadą terapii jest konieczność wielokrotnego powtarzania bolesnego zabiegu i długi czas gojenia rany. U niektórych pacjentów w miejscu zamrażania obserwuje się także trwałą depigmentację skóry [73].

W laseroterapii keloidów stosowane są lasery ablacyjne (CO₂, argonowy, Nd:YAG) i lasery nieablacyjne (pulsacyjne lasery barwnikowe: FLPD 585 nm i FLPD 595 nm). Częstość nawrotów po zastosowaniu laserów ablacyjnych jest wysoka, natomiast dużo lepsze efekty kosmetyczne przynosi stosowanie laserów nieablacyjnych [74]. Działanie terapeutyczne laserów barwnikowych polega na niszczeniu naczyń krwionośnych keloidów i częściowej degradacji ściśle upakowanych włókien kolagenowych. Po zabiegu następuje uelastycznienie struktury keloidu, zmniejszenie jego wymiarów, a także wyciszenie rumienia i świądu. W badaniach *in vitro* prowadzonych na fibroblastach keloidowych oraz *in vivo* na keloidach wykazano, że światło laserów barwnikowych hamuje także proliferację komórek oraz ekspresję ważnych w fibrogenie czynników wzrostu, tj. TGF- β i CTGF. Stwierdzono również, że ekspozycja komórek na światło lasera stymuluje aktywność MMP-13 [74, 75].

Długotrwała terapia z wykorzystaniem opatrunków uciskowych znalazła zastosowanie jedynie w leczeniu keloidów małżowiny usznej [72]. Zwiększone pod wpływem ucisku napięcie włókien ECM indukuje ich apoptozę [73].

Do metod farmakologicznych leczenia keloidów należą iniekcje w obszar blizny 5-fluorouracylu (hamuje proliferację fibroblastów), bleomycyny (powoduje nekrozę keratynocytów z następczą infiltracją keloidu przez komórki układu immunologicznego), doksorubicyny (hamuje syntezę kolagenu poprzez inaktywację hydroksylazy prolilowej 4), werapamilu (hamuje syntezę i sekrecję składników ECM poprzez blokowanie błonowych kanałów wapniowych) i toksyny botulinowej typu A (poprzez zniesienie napięcia mięśni redukuje napięcie skóry). Powierzchniowo w terapii keloidów stosowane są natomiast: kwas retinowy (moduluje syntezę kolagenu i proliferację fibroblastów keloidowych), krem zawierający imikwimod w stężeniu 5% (pobudza makrofagi i monocyty do produkcji IFN- α i IFN- γ oraz IL-12 i TNF- α) oraz tranilast podawany za pomocą jonoforezy lub doustnie (hamuje syntezę kolagenu, metaloproteinaz i ich inhibitorów). Efektem leczenia keloidów wymienionymi lekami jest w różnym stopniu nasilona regresja zmiany od jej brzegów ku części centralnej i/lub jej spłaszczenie (nawet do całkowitego zaniku) oraz wyciszenie objawów subiektywnych [73, 76, 77].

Ze względu na istotny udział cytokin w patogenezie keloidów prowadzone są również badania nad możliwością leczenia bliznowców za pomocą inhibitorów takich czynników wzrostu, jak TNF- α , VEGF, IGF, TGF- β 1 i CTGF [19, 73, 78, 79]. Z uwagi na nadrzedną rolę, jaką w procesie tworzenia się keloidów odgrywa TGF- β , badania nad możliwością modulowania ekspresji tego czynnika wzrostu są najbardziej zaawansowane. Wykazano, że ekspresję TGF- β hamuje cytrynian tamoksyfenu, stosowany w leczeniu raka piersi jako selektywny modulator receptorów estrogenowych. W fibroblastach keloidowych traktowanych tamoksyfenem obserwowano zahamowanie syntezy kolagenu oraz mniejszą aktywność mitotyczną. Poza modulowaniem ekspresji TGF- β tamoksyfen wpływa również na ekspresję IGF, VEGF i bFGF [15]. Indukowaną TGF- β 1 proliferację fibroblastów keloidowych oraz syntezę kolagenu hamują również retinoidy, genisteina i takrolimus [19, 80]. Innymi kierunkami modulowania ekspresji TGF- β 1 w procesie gojenia ran są: śródskórna iniekcja ludzkiego rekombinowanego TGF- β 3 (*avotermin*) – izoformy TGF- β o działaniu antyfibrotycznym – oraz terapie genowe wykorzystujące antysensowe oligonukleotydy TGF- β 1 i przeciwciała dla TGF- β 1 [81–83].

PODSUMOWANIE

Keloidy mogą się pojawić nawet po niewielkim urazie prowadzącym do przerwania ciągłości skóry. Możliwości leczenia tego rodzaju blizn są ograniczone i na ogół jest ono nieskuteczne. W patofizjologii keloidów wskazuje się na istotną rolę cytokin, zwłaszcza TGF- β i CTGF, oraz metaloproteinaz (MMP-1, MMP-2 i MMP-9) i proteaz błonowych (FAP- α i DPPIV). Lepsze poznanie etiopatogenezy keloidów na poziomie molekularnym pozwoliło na podjęcie prób modulowania ekspresji cząsteczek profibrotycznych i procesu przebudowy ECM oraz apoptozy komórek z użyciem substancji czynnych o działaniu przeciwfibroproliferacyjnym.

Aktualnie najbardziej zaawansowane są badania nad modulowaniem ekspresji i aktywności TGF- β . Analizowany jest także wpływ na ekspresję TGF- β takich związków, jak tamoksyfen, kwas retinowy, genisteina i tranilast. Badania te skupiają się na metodach bezpośredniego hamowania procesów fibroproliferacyjnych, związanych głównie z ekspresją cytokin, proliferacją fibroblastów i biosyntezą składników macierzy pozakomórkowej, ważnych w patofizjologii keloidów.

Konflikt interesów

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

1. Robles D.T., Moore E., Draznin M., Berg D.: Keloids: pathophysiology and management. *Dermatol Online J* 2007, 13, 9.
2. Viera M.H., Vivas A.C., Berman B.: Update on keloid management: clinical and basic science advances. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2012, 1, 200-206.
3. Shih B., Bayat A.: Genetics of keloid scarring. *Arch Dermatol Res* 2010, 302, 319-339.
4. Boniarczyk-Dyła G., Urysiak I., Wawrzycka-Kaflik A.: Keloidy i blizny przerosłe. *Postep Derm Alergol* 2006, 23, 234-238.
5. Du Vivier A.: Atlas dermatologii klinicznej. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2005, 149-150.
6. Seifert O., Mrowietz U.: Keloid scarring: bench and bedside. *Arch Dermatol Res* 2009, 301, 259-272.
7. Chen W., Fu X., Sun X., Sun T., Zhao Z., Sheng Z.S.: Analysis of differentially expressed genes in keloids and normal skin with cDNA microarray. *J Surg Res* 2003, 113, 208-216.
8. Marneros A.G., Norris J.E.C., Olsen B.R., Reichenberger E.: Clinical genetics of familial keloids. *Arch Dermatol* 2001, 137, 1429-1434.
9. Tanaka A., Hatoko M., Tada H., Iioka H., Niitsuma K., Miyagawa S.: Expression of p53 family in scars. *J Dermatol Sci* 2004, 34, 17-24.
10. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., Ruzicka T., Jeschke M.G.: Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med* 2011, 17, 113-125.
11. Seifert O., Bayat A., Geffers R., Dienus K., Buer J., Löfgret S. i inni: Identification of unique gene expression within different lesional sites of keloids. *Wound Rep Reg* 2008, 16, 254-265.
12. Ulrich D., Ulrich F., Unglaub F., Piatkowski A., Pallua N.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in patients with different types of scars and keloids. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010, 63, 1015-1021.
13. Guo S., Dipietro L.A.: Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010, 89, 219-229.
14. Clark R.A.F., Singer A.J.: Wound repair: basic biology to tissue engineering. [w:] *Principles of tissue engineering*. R.P. Lanza, R. Langer, J. Vacanti (red.). Academic Press, San Diego, CA, 2000, 857-871.
15. Gragnani A., Warde M., Furtado F., Ferreira L.M.: Topical tamoxifen therapy in hypertrophic scars or keloids in burns. *Arch Dermatol Res* 2010, 302, 1-4.
16. Davison S., Aziz N., Rashid R.M., Khachemoune A.: A primary care perspective on keloids. *Medscape J Med* 2009, 11, 18.
17. Salem A., Assaf M., Helmy A., Nofal A., Ibrahim S., El-deeb F. i inni: Role of vascular endothelial growth factor in keloids: a clinicopathologic study. *Int J Dermatol* 2009, 48, 1071-1077.
18. Lee T.Y., Chin G.S., Kim W.J., Chau D., Gittes G.K., Longaker M.T.: Expression of transforming growth factor beta 1, 2, and 3 proteins in keloids. *Ann Plast Surg* 1999, 43, 179-184.
19. Jurzak M., Adamczyk K., Antończak P., Garnarczyk A., Kuśmierz D., Latocha M.: Evaluation of genistein ability to modulate CTGF mRNA/protein expression, gene expression of TGFbeta isoforms and expression of selected genes regulating cell cycle in keloid fibroblasts in vitro. *Acta Pol Pharm Drug Res* 2014, 71, 972-986.
20. Gojniczek K., Jurzak M., Garnarczyk A.: The role of connective tissue growth factor (CTGF) in fibroproliferative processes and tissues fibrosis. *Adv Cell Biol* 2010, 1, 1-17.
21. Colwell A.S., Phan T.T., Kong W., Longaker M.T., Lorenz P.H.: Hypertrophic scar fibroblasts have increased

- connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. *Plast Reconstr Surg* 2005, 116, 1387-1390.
22. **Leask A., Holmes A., Black C.M., Abraham D.J.:** Connective tissue growth factor gene regulation. Requirements for its induction by transforming growth factor-beta 2 in fibroblasts. *J Biol Chem* 2003, 278, 13008-13015.
 23. **Xu Q., Norman J.T., Shrivastav S., Lucio-Cazana J., Kopp J.B.:** In vitro models of TGF-beta-induced fibrosis suitable for high-throughput screening of antifibrotic agents. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007, 293, 631-640.
 24. **Leask A.:** Signaling in fibrosis: targeting the TGF beta, endothelin-1 and CCN2 axis in scleroderma. *Front Biosci (Elite Ed)* 2009, 1, 115-122.
 25. **Liu J.Y., Li S.R., Ji S.X.:** Expression of connective tissue growth factor gene in the hypertrophic scar and keloid tissue. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2003, 17, 436-438.
 26. **Igarashi A., Nashiro K., Kikuchi K., Sato S., Ihn H., Fujimoto M. i inni:** Connective tissue growth factor gene expression in tissue sections from localized scleroderma, keloid, and other fibrotic skin disorders. *J Invest Dermatol* 1996, 106, 729-733.
 27. **Liu J.Y., Li S.R., Ji S.X.:** Effects of connective tissue growth factor antisense oligonucleotides on the cultured human keloid fibroblast in vitro. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi* 2004, 20, 454-456.
 28. **Khoo Y.T., Ong C.T., Mukhopadhyay A., Han H.C., Do D.V., Lim I.J. i inni:** Upregulation of secretory connective tissue growth factor (CTGF) in keratinocyte-fibroblast coculture contributes to keloid pathogenesis. *J Cell Physiol* 2006, 208, 336-343.
 29. **Talar B., Czyż M.:** TGF-beta signaling pathways in cancers. *Postepy Hig Med Dosw* 2013, 25, 1008-1017.
 30. **Fujiwara M., Muragaki Y., Ooshima A.:** Upregulation of transforming growth factor-beta1 and vascular endothelial growth factor in cultured keloid fibroblasts: relevance to angiogenic activity. *Arch Dermatol Res* 2005, 297, 161-169.
 31. **Tandon A., Tovey J.C., Sharma A., Gupta R., Mohan R.R.:** Role of transforming growth factor beta in corneal function, biology and pathology. *Curr Mol Med* 2010, 10, 565-578.
 32. **Verrecchia F., Mauviel A.:** Transforming growth factor-beta and fibrosis. *World J Gastroenterol* 2007, 13, 3056-3062.
 33. **Prud'homme G.J.:** Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. *Lab Invest* 2007, 87, 1077-1091.
 34. **Liu W., Wang D.R., Cao Y.L.:** TGF-beta: a fibrotic factor in wound scarring and a potential target for anti-scarring gene therapy. *Curr Gene Ther* 2004, 4, 123-136.
 35. **Denys H., Derycke L., Hendrix A., Westbroek W., Gheldof A., Narine K. i inni:** Differential impact of TGF-beta and EGF on fibroblast differentiation and invasion reciprocally promotes colon cancer cell invasion. *Cancer Lett* 2008, 266, 263-274.
 36. **Chen H., Yang W.W., Wen Q.T., Xu L., Chen M.:** TGF-beta induces fibroblast activation protein expression; fibroblast activation protein expression increases the proliferation, adhesion, and migration of HO-8910PM [corrected]. *Exp Mol Pathol* 2009, 87, 189-194.
 37. **Lipka D., Boratyński J.:** Metalloproteinazy MMP. Struktura i funkcja. *Postepy Hig Med Dosw* 2008, 62, 328-336.
 38. **Trojaneck J.:** Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors. *Post Biochem* 2012, 58, 353-362.
 39. **Amálinei C., Cáruntu J.D., Bălan R.A.:** Biology of metalloproteinases. *Rom J Morph Embriol* 2007, 48, 323-334.
 40. **Somerville R.P., Oblander S.A., Apte S.S.:** Matrix metalloproteinases: olddogs with new tricks. *Genome Biol* 2003, 4, 216.
 41. **Groblewska M., Mroczko B., Szmítkowski M.:** The role of selected matrix metalloproteinases and their inhibitors in colorectal cancer development. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2010, 64, 22-30.
 42. **Hunasgi S., Koneru A., Vanishree M., Shamala R.:** Keloid: a case report and review of pathophysiology and differences between keloid and hypertrophic scars. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013, 17, 116-120.
 43. **O'Brien P., O'Connor B.F.:** Seprase: an overview of an important matrix serine protease. *Biochim Biophys Acta* 2008, 1784, 1130-1145.
 44. **Hrabec E., Naduk J., Stręk M., Hrabec Z.:** Kolagenazy typu IV (MMP- 2 i MMP-9) i ich substraty – białka macierzy pozakomorkowej, hormony, cytokiny, chemokiny i ich receptory. *Post Biochem* 2007, 53, 37-45.
 45. **Fujiwara M., Muragaki Y., Ooshima A.:** Keloid-derived fibroblasts show increased secretion of factors involved in collagen turnover and depend on matrix metalloproteinase for migration. *Br J Dermatol* 2005, 153, 295-300.
 46. **Oriente A., Fedarko N.S., Pacocha S.E., Huang S.K., Lichtenstein L.M., Essayan D.M.:** Interleukin-13 modulates collagen homeostasis in human skin and keloid fibroblasts. *J Pharmacol Exp Ther* 2000, 292, 288-294.
 47. **Uchida G., Yoshimura K., Kitano Y., Okazaki M., Harii K.:** Tretinoin reverses upregulation of matrix metalloproteinase-13 in human keloid-derived fibroblasts. *Exp Dermatol* 2003, 12, 35-42.
 48. **Kuo Y.R., Wu W.S., Jeng S.F., Wang F.S., Huang H.C., Lin C.Z. i inni:** Suppressed TGF-beta1 expression is correlated with up-regulation of matrix metalloproteinase-13 in keloid regression after flashlamp pulsed-dye laser treatment. *Lasers Surg Med* 2005, 36, 38-42.
 49. **Imaizumi R., Akasaka Y., Inomata N., Okada E., Ito K., Ishikawa Y. i inni:** Promoted activation of matrix metalloproteinase (MMP)-2 in keloid fibroblasts and increased expression of MMP-2 in collagen bundle regions: implications for mechanisms of keloid progression. *Histopathology* 2009, 54, 722-730.
 50. **Ulrich D., Ulrich F., Unglaub F., Piatkowski A., Pallua N.:** Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in patients with different types of scars and keloids. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010, 63, 1015-1021.
 51. **Kelly B.C., Markle L.S., Vickers J.L., Pettitt M.S., Raimer S.S., McNeese C.:** The imbalanced expression of matrix metalloproteinases in nephrogenic systemic fibrosis. *J Am Acad Dermatol* 2010, 63, 483-489.
 52. **Lee W.J., Park S.E., Rah D.K.:** Effects of hepatocyte growth factor on collagen synthesis and matrix metalloproteinase production in keloids. *J Korean Med Sci* 2011, 26, 1081-1086.
 53. **McFarland K.L., Glaser K., Hahn J.M., Boyce S.T., Supp D.M.:** Culture medium and cell density impact gene expression in normal skin and abnormal scar-derived fibroblasts. *J Burn Care Res* 2011, 32, 498-508.
 54. **Aoki M., Miyake K., Ogawa R., Dohi T., Akaishi S., Hyakusoku H. i inni:** siRNA knockdown of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in keloid fibroblasts leads to degradation of collagen type I. *J Invest Dermatol* 2014, 134, 818-826.
 55. **Tanriverdi-Akhisaroglu S., Menderes A., Oktay G.:** Matrix metalloproteinase-2 and -9 activities in human keloids, hypertrophic and atrophic scars: a pilot study. *Cell Biochem Funct* 2009, 27, 81-87.
 56. **Itoh Y., Seiki M.:** MT1-MMP: a potent modifier of pericellular microenvironment. *J Cell Physiol* 2006, 206, 1-8.
 57. **van Hinsbergh V.W., Engelse M.A., Quax P.H.:** Pericellular proteases in angiogenesis and vasculogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26, 716-728.

58. Yu Q., Stamenkovic I.: Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev* 2000, 14, 163-176.
59. Wang M., Zhao D., Spinetti G., Zhang J., Jiang L.Q., Pintus G. i inni: Matrix metalloproteinase 2 activation of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and TGF-beta1-type II receptor signaling within the aged arterial wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26, 1503-1509.
60. Kim E.S., Kim M.S., Moon A.: TGF-beta-induced upregulation of MMP-2 and MMP-9 depends on p38 MAPK, but not ERK signaling in MCF10A human breast epithelial cells. *Int J Oncol* 2004, 25, 1375-1382.
61. Bran G.M., Goessler U.R., Hormann K., Riedel F., Sadick H.: Keloids: current concepts of pathogenesis (review). *Int J Mol Med* 2009, 24, 283-293.
62. Rosenblum J.S., Kozarich J.W.: Prolyl peptidases: a serine protease subfamily with high potential for drug discovery. *Curr Opin Chem Biol* 2003, 7, 496-504.
63. Goldstein L.A., Ghersi G., Pineiro-Sanchez M.L., Salamone M., Yeh Y., Flessate D. i inni: Molecular cloning of seprase: a serine integral membrane protease from human melanoma. *Biochim Biophys Acta* 1997, 1361, 11-19.
64. Tomasek J.J., Gabbiani G., Hinz B., Chaponnier C., Brown R.A.: Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002, 3, 349-363.
65. Dienus K., Bayat A., Gilmore B.F., Seifert O.: Increased expression of fibroblast activation protein-alpha in keloid fibroblasts: implications for development of a novel treatment option. *Arch Dermatol Res* 2010, 302, 725-731.
66. Monsky W.L., Lin C.Y., Aoyama A., Kelly T., Akiyama S.K., Mueller S.C.: A potential marker protease of invasiveness, seprase, is localized on invadopodia of human malignant melanoma cells. *Cancer Res* 1994, 54, 5702-5710.
67. Aoyama A., Chen W.T.: A 170-kDa membrane-bound protease is associated with the expression of invasiveness by human malignant melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87, 8296-8300.
68. Artym V.V., Kindzelskii A.L., Chen W.T., Petty H.R.: Molecular proximity of seprase and the urokinase-type plasminogen activator receptor on malignant melanoma cell membranes: dependence on beta1 integrins and the cytoskeleton. *Carcinogenesis* 2002, 23, 1593-1601.
69. Mueller S.C., Ghersi G., Akiyama S.K., Sang Q.X., Howard L., Pineiro-Sanchez M. i inni: A novel protease docking function of integrin at invadopodia. *J Biol Chem* 1999, 274, 24947-24952.
70. Brown J.J., Bayat A.: Genetic susceptibility to raised dermal scarring. *Br J Dermatol* 2009, 161, 8-18.
71. Wynn T.A.: Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* 2004, 4, 583-594.
72. Berman B., Viera M.H.: Keloid and hypertrophic scar treatment and management. Medscape reference. *Drug, Diseases & Procedures*: <http://emedicine.medscape.com/article/1057599-treatment#aw2aab6b6b3>
73. Shih R., Waltzman J., Evans G.R.D.: Review of over-the-counter topical scar treatment products. *Plast Reconstr Surg* 2007, 119, 1091-1095.
74. Zhu R.Z., Yue B., Yang Q., Ma Y., Huang G., Guan M. i inni: The effect of 595 nm pulsed dye laser on connective tissue growth factor (CTGF) expression in cultured keloid fibroblasts. *Laser Surg Med* 2015, 47, 203-209.
75. Yang Q., Ma Y., Zhu R., Huang G., Guan M., Avram M.M. i inni: The effect of flashlamp pulsed dye laser on the expression of connective tissue growth factor in keloids. *Lasers Surg Med* 2012, 44, 377-383.
76. Shimizu T., Kanai K.I., Kyo Y., Asano K., Hisamitsu T., Suzuki H.: Effect of tranilast on matrix metalloproteinase production from neutrophils in vitro. *J Pharm Pharmacol* 2006, 58, 91-99.
77. Shigeki S., Murakami T., Yata N., Ikuta Y.: Treatment of keloid and hypertrophic scars by iontophoretic transdermal delivery of tranilast. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 1997, 31, 151-158.
78. Viera M.H., Amini S., Valins W., Berman B.: Innovative therapies in the treatment of keloids and hypertrophic scars. *J Clin Aesthetic Dermatol* 2010, 3, 20-26.
79. Wu Y., Peng Y., Gao D., Feng C., Yuan X., Li H. i inni: Mesenchymal stem cells suppress fibroblast proliferation and reduce skin fibrosis through a TGF-beta3-dependent activation. *Int J Low Extrem Wounds* 2015, 14, 50-62.
80. Wu C.S., Wu P.H., Fang A.H., Lan C.C.: FK506 inhibits the enhancing effects on transforming growth factor (TGF)-beta1 on collagen expression and TGF-beta/Smad signaling in keloid fibroblasts: implication for new therapeutic approach. *Br J Dermatol* 2012, 167, 532-541.
81. Bran G.M., Goessler U.R., Schardt C., Hormann K., Riedel F., Sadick H.: Effect of the abrogation of TGF-beta1 by antisense oligonucleotides on the expression of TGF-beta-isoforms and their receptors I and II in isolated fibroblasts from keloid scars. *Int J Mol Med* 2010, 25, 915-921.
82. So K., McGrouther D.A., Bush J.A., Durani P., Taylor L., Skotny G. i inni: Avotermin for scar improvement following scar revision surgery: a randomized, double-blind, within-patient, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Plast Reconstr Surg* 2011, 128, 163-172.
83. Bush J., Duncan J.A., Bond J.S., Durani P., So K., Mason T. i inni: Scar-improving efficacy of avotermin administered into the wound margins of skin incisions as evaluated by a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Plast Reconstr Surg* 2010, 126, 1604-1615.

Otrzymano: 26 I 2015 r.

Zaakceptowano: 22 V 2015 r.