

УДК 577.122.8
DOI 10.17721/1728.2748.2023.97.46-51

Наталія РАКША¹, д-р біол. наук
ORCID ID: 0000-0001-6654-771X
e-mail: nkudina@ukr.net

Наталія НІКІТИНА¹, д-р філософії
ORCID ID: 0000-0003-4209-5741
e-mail: nikitina18@ukr.net

Людмила СТЕПАНОВА¹, канд. біол. наук
ORCID ID: 0000-0002-8833-9409
e-mail: ulunga@ukr.net

Тетяна БЕРЕГОВА¹, д-р біол. наук
ORCID ID: 0009-0001-9976-1891
e-mail: tetyana_beregova@ukr.net

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ КОЛАГЕНУ З ГІДРОБІОНТІВ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ РАНОЗАГОЮВАЛЬНІ ЗАСОБИ

Вступ. Досліджено композиції на основі колагену з гідробіонтів як потенційних ранозагоювальних засобів. Як сировину для одержання колагену було використано луску риб Антарктичного регіону *Champsoccephalus gunnari*, *Nototheniidae* та біомасу медуз виду *Diplulmaris antarctica*.

Методи. Процедура одержання колагену мала етапи висолювання неколагенових білків із використанням 10 % NaCl, демінералізації сировини 0,4 М HClO₄ та екстракції колагену 0,5 М оцтовою кислотою з подальшим переосадженням отриманого колагену та його ліофілізацією.

Результати. Було одержано колаген I типу, що підтверджується результатами електрофоретичного аналізу, зокрема, молекулярною масою α -ланцюгів колагену (117 та 110 кДа) та їхнім співвідношенням (2:1). Ранозагоювальний ефект композицій на основі 5 % колагену досліджували на моделі вирізаних площинних ран у щурів. Основою для приготування композицій слугував 0,5 % розчин карбополу. Нанесення композицій починали на третій день після моделювання площинної рани, рани обробляли через день і до повного загоєння.

Висновки. Встановлено певний ранозагоювальний ефект колагену, який проявляється у пришвидшенні процесу загоєння ран. При нанесенні на поверхню рани композицій на основі колагену з луски та колагену, екстрагованого з медуз, повна епітелізація ран спостерігалася на 18 добу порівняно з результатом у групі тварин, де рани гоїлись природним чином і для яких повне загоєння відбувалось на 22 добу. Незважаючи на те, що композиція на основі колагену з луски риб була більш ефективною у перший тиждень дослідження, оцінювання площі ран на момент повного загоєння свідчить про дещо кращий ранозагоювальний ефект композиції на основі колагену з *D. antarctica*.

Ключові слова: колаген, вирізані площинні рани, загоєння.

Вступ

Проблема лікування ран, незважаючи на суттєві досягнення в розумінні механізмів загоєння та з'ясуванні особливостей перебігу патологічного процесу залежно від етіології рани, а також значну кількість медикаментозних засобів та підходів, що використовуються у практиці терапії ранових уражень шкіри, все ще залишається актуальною проблемою сучасної медицини. Особливо гостро питання лікування ран постає для України через зростання кількості постраждалих унаслідок розв'язаної росією війни. Масштаби проблеми спонукають до створення нових чи вдосконалення існуючих лікарських засобів задля насичення ринку ефективними і водночас доступними за ціною препаратами. Варто зазначити, що спричинене воєнними діями на території України порушення напрацьованих логістичних маршрутів та шляхів постачання субстанцій для фармацевтичного сектору промисловості, а також готових лікарських засобів, оголило проблему необхідності розвитку імпортозамінних виробництв в Україні з метою максимального заміщення імпортованих лікарських засобів вітчизняними та розширення асортименту м'яких лікарських засобів.

Загоєння ран – це складний процес, який передбачає декілька стадій, визначений та строго контрольо-

ваний перебіг яких є необхідною умовою успішного гоєння (Wilkinson, & Hardman, 2020). Порушення узгодженості між різними механізмами, що залучені до процесу гоєння, впливатиме на швидкість та ефективність загоєння і часто є причиною виникнення ран з ускладненим патогенезом, які складно піддаються лікуванню. Оскільки вагомим структурним елементом позаклітинного матриксу, який безпосередньо залучений до регуляції деяких реакцій, асоційованих із рановим процесом (запалення, ангіогенез, ремоделювання позаклітинного матриксу), є колаген, то засоби на основі колагену мають значний терапевтичний ефект і активно використовуються в косметології, а також як допоміжні препарати під час лікування ран (Mathew-Steiner, Roy, & Sen, 2021). Структурно функціональні властивості колагену відкривають перспективи його використання не лише як одного з активних складових ранозагоювальних композитів, але й як основи для створення колагенових губок чи матриць для пролонгування дії біологічно активних речовин, у тому числі пептидів, введених у колагенову матрицю.

Тривалий час як основну сировину для отримання колагену використовували кістки, хрящі чи шкіру свійських тварин, які збагачені на колаген і у середньому містять до 95 % цього білка. Однак на сьогодні, з огляду на

часті спалахи інфекційних захворювань серед худоби, використання цього сировинного ресурсу різко скоротилось. Крім того, застосування в повсякденному житті засобів на основі молекул тваринного походження неприйнятне для окремих верств населення через їхні релігійні, морально-етичні переконання та/або спосіб життя. Це все на тлі стабільно зростаючого попиту на продукцію на основі колагену спонукає до пошуку нових джерел колагену.

У своїй роботі ми зупинилися на "морському" колагені, який на сьогодні розглядається як альтернатива колагену, отриманому з традиційних джерел (Cruz et al., 2021; Geahchan, Baharlouei, & Rahman, 2022). Незважаючи на консервативність будови, колаген із гідробіонтів має деякі відмінності, зокрема, меншим є вміст аланіну, проліну, гідроксипроліну; дещо вищим є вміст аргініну, аспарагінової кислоти, треоніну, тирозину, цистеїну та метіоніну (Zeng et al., 2012), що впливає на його структурні характеристики. Перевагою колагену, одержаного з морських гідробіонтів, є його нижча імуногенність (Yamada et al., 2014). Крім того, вища гідрофільність і нижча термостабільність "морського" колагену роблять його зручним компонентом для приготування дерматотропних засобів, що наносяться у вигляді мазей чи аплікацій (Song et al., 2006). У дослідженні як джерело колагену було використано відходи рибної промисловості, зокрема, луску, яка з огляду на досить високий вміст цього білка (до 30 %) та доступність може слугувати дешевим і необмеженим сировинним ресурсом. Ще одним джерелом колагену слугували непромислові види морських гідробіонтів, з-поміж яких ми зупинили свій вибір на медузі. Адже на сьогодні цей гідробіонт через стрімке зростання чисельності впливає на екологічну рівновагу на рівні локальних екосистем. Окрім того, як потенційно інвазійні види, медузи становлять суттєву загрозу експансії в інші регіони.

Метою роботи було отримати колаген із луски риб Антарктичного регіону *Champscephalus gunnari*, *Nototheniidae* та біомаси медуз виду *Diplulmaris antarctica* та оцінити його потенційний ранозагоювальний ефект на моделі вирізаних площинних ран у щурів.

Методи

Як джерело для одержання колагену було використано луску риб Антарктичного регіону *Champscephalus gunnari*, *Nototheniidae* та біомасу медуз виду *Diplulmaris antarctica*. Щоб отримати колаген із луски, її ретельно промивали, після чого проводили висолювання неколагенових білків, додаючи 10 % NaCl у співвідношенні 1:10 (маса луски : об'єм розчину) (Zhang et al., 2011). На наступний день рідину зливали, луску заливали 0,4 М HClO₄ за співвідношення 1:15 (маса луски : об'єм розчину) і залишали на 24 год. Цей етап необхідний для демінералізації луски перед проведенням етапу екстракції колагену. Демінералізовану луску промивали холодною дистильованою водою, додавали 0,5 М оцтової кислоти та 5 мМ ЕДТА (1:10, маса луски : об'єм розчину) і залишали на 12 год. Етапи висолювання неколагенових білків, демінералізації та екстракції колагену супроводжувались постійним інтенсивним перемішуванням. По закінченні періоду інкубації зразок центрифугували при 10 000 г упродовж 40 хв. Отриманий осад розчиняли у 0,5 М оцтової кислоти з додаванням 5 мМ ЕДТА і повторно залишали на 12 год. Після повторного центрифугування проб колаген висолювали додаванням до

супернатанту NaCl до кінцевої концентрації 0,9 М. Етап екстракції колагену повторювали двічі. Для одержання колагену з медуз біомасу гомогенізували, гомогенат змішували з об'ємом 2 М оцтової кислоти і залишали на 12 год на шейкері з інтенсивним режимом струшування. Потім, після центрифугування проби при 10 000 г (30 хв), до надосадової рідини додавали NaCl до кінцевої концентрації 0,9 М. Після 12 год інкубації пробу центрифугували за вищевказаних умов. Одержаний осад розчиняли в 0,2 М оцтової кислоти. Отримані зразки колагену діалізували проти дистильованої води та ліофілізували.

Дослідження проводили на нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 200–250 г, кількість залучених до експерименту тварин становила 18. Маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), етичними принципами, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001 р.) та чинним законодавством і нормативно-правовими актами про поводження та експериментальні дослідження з лабораторними тваринами. Тварин утримували у віварії Навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі "Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)". Перед початком експерименту щурів витримували на карантині, по завершенню якого тварин оглядали і зважували. Площинні рани відтворювали на попередньо деепільованій ділянці шкіри. Шкіру розміром 1 × 1 см² вирізували хірургічним скальпелем. Кровотечу зупиняли за допомогою стерильних марлевих тампонів, змочених у 3 % розчині пероксиду водню. Під час моделювання вирізаних площинних ран тварин знеболювали шляхом внутрішньочеревинного введення тілетаміну гідрохлориду ("Золетил 100", Virbac) із розрахунку 15 мг/кг. Тварини утримувалися в індивідуальних клітках упродовж всього періоду експерименту. Для з'ясування ранозагоювального ефекту композицій на основі колагену тварини були поділені на три групи по шість тварин у кожній: I група – загоєння ран відбувалось природним чином; II група – рани обробляли 5 % колагеном, екстрагованим з *D. antarctica*; III група – рани обробляли 5 % колагеном, екстрагованим з луски риб Антарктичного регіону. Основою для приготування композицій слугували 0,5 % розчин карбополу. Нанесення композицій на основі колагену починали на третій день після моделювання площинної рани, рани обробляли через день і до повного загоєння. Для оцінювання динаміки загоєння ран площу ранової поверхні фотографували цифровою фотокамерою Nikon-D3100 на початку експерименту та через кожні дві доби до повного загоєння. Розраховували такі планіметричні показники (Taburets et al., 2017), як: площа гоєння $S_{заг} (мм^2) = S_{вихід} - S_{досл}$; швидкість гоєння $V_{заг} (мм^2/добу) = S_{заг}/a$, де a – кількість днів до повного гоєння ран. Результати виражали у відсотках від початкової площі.

Результати

Із-поміж колагенів найвищий медичний потенціал становить колаген I типу, який є основним колагеном шкіри, сухожилля кісток (Shenou et al., 2022; Singh,

Rai, & Agrawal, 2023). Саме тому препарати на основі колагену I типу досить поширені в косметології та використовуються як допоміжні засоби під час лікування ран. З огляду на вищевикладене, для створення композицій із потенційним ранозагоювальним ефектом, нами було використано колаген I типу. Підтвердженням належності колагену, екстрагованого з луски риб та біомаси медузи, саме до колагену I типу слугують результати електрофоретичного аналізу (рис. 1), зокрема, наявність у треку смуг, які за молекулярною масою відповідають α -ланцюгам колагену, – близько 117 кДа для α 1-ланцюгів колагену та 110 кДа для α 2-ланцюгів колагену. Додатковим підтвердженням належності отриманого колагену саме до I типу є співвідношення α -ланцюгів, яке становить 2:1 (α 1 : α 2). Смуги з молекулярною масою 200 кДа і вище можуть бути наслідком димеризації α -ланцюгів колагену та утворення β 1-димерів та/і β 2-димерів із молекулярною масою 215 кДа та 200 кДа, відповідно.

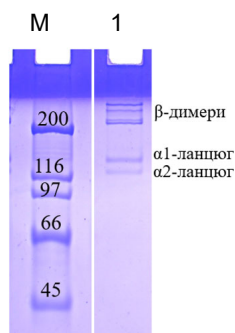


Рис. 1. Електрофореграма зразка колагену, одержаного з луски риб Антарктичного регіону: М – маркери молекулярних мас, кДа; 1 – зразок колагену

Оцінювання потенційного ранозагоювального ефекту композицій на основі колагену проводили на моделі вирізаних площинних ран. Вибір саме такої моделі ран продиктований тим фактом, що відсоток різаних ран у структурі ранових уражень стабільно високий, що зазвичай є наслідком виробничого та побутового травматизму, тобто чинників, які супроводжують наше повсякденне життя. І хоча цей різновид ран характеризується більш легким перебігом патологічного процесу та кращою динамікою загоєння порівняно з опіковими чи гнійно-некротичними ранами, поширеність таких ран обґрунтовує необхідність пошуку засобів, які б пришвидшували процес загоєння різаних ран та знижували ймовірність утворення рубців. Це особливо актуально для пацієнтів, що хворіють на цукровий діабет чи метаболічний синдром, для яких процес загоєння зазвичай ускладнений.

Природний процес загоєння є складним процесом, який містить етапи запалення, проліферації та ремоделювання, порушення перебігу яких може спровокувати хронічний характер процесу, загоєння ран із формуванням виражених рубців, що, окрім функціональних відхилень, є ще й косметологічною проблемою, яка зазвичай впливає на самооцінювання та психологічний стан пацієнтів (Almadani et al., 2021). За таких обставин

своєчасна терапія з використанням належних ранозагоювальних засобів може попередити виникнення багатьох незручностей та проблем у житті пацієнта.

В умовах нашого дослідження композиції на основі колагену з гідробіонтів Антарктичного регіону наносили у вигляді мазі, яку готували на 0,5 % карбополі. Нанесення композицій у формі мазі є атравматичним, крім того, за таких умов забезпечується стабільне підтримання вологого середовища, що згідно із сучасними уявленнями щодо терапії ран, є важливою умовою успішного лікування (Boyko, Longaker, & Yang, 2018). Шар мазі на поверхні рани створює своєрідний захисний бар'єр, який попереджує проникнення до рани мікроорганізмів, а тому знижується ймовірність розвитку гнійно-некротичних ускладнень. Оскільки наші дослідження є лише попереднім етапом роботи, спрямованим на з'ясування, чи має колаген із гідробіонтів Антарктичного регіону ранозагоювальні властивості, то було оцінено лише декілька показників, а саме: площу ран у динаміці гоєння та швидкість загоєння ран. У процесі гоєння ран можна виділити декілька фаз: фаза запалення настає безпосередньо після травми і триває 2-3 доби; фаза регенерації і формування грануляційної тканини починається з 3-4 доби; фаза рубцювання та епітелізації (загоєння) починається з восьмої доби після отримання травми. Відповідно до наведеного поділу на фази вимірювання площі ран проводили через кожні три доби, починаючи з шостої доби; проведення вимірювань раніше є недоцільним, оскільки ранове ложе характеризується вираженим запальним процесом, що значно ускладнює здійснення коректних вимірювань.

На початку експерименту площа вирізаних площинних ран у середньому становила 110–113 мм² (табл. 1). На шосту добу площа рани в групі тварин, рани яких гоїлись природним шляхом без нанесення будь-яких композицій, становила 80,64 ± 4,21 мм². Водночас у групі тварин, яким наносили композицію на основі колагену з *D. antarctica* цей показник був 44,56 ± 2,00 мм², а в групі тварин, яким наносили композицію з колагену з луски риб – 33,00 ± 1,50 мм², що в 2,5 та 3,4 раза менше, ніж на початку експерименту. Такі результати свідчать про певний ранозагоювальний ефект досліджуваних композицій. Аналіз площі ранової поверхні в динаміці гоєння лише підтвердив виявлений ефект – композиції на основі колагену пришвидшували процес загоєння і повна епітелізація ран спостерігалася на 18 добу порівняно з результатом у групі тварин без нанесення композицій, для яких повне загоєння спостерігалось на 22 добу. Незважаючи на те, що композиція на основі колагену з луски риб Антарктичного регіону була більш ефективною в перший тиждень дослідження, оцінювання площі ран на момент повного загоєння свідчить про дещо кращий ранозагоювальний ефект композиції на основі колагену з *D. Antarctica* – площа рани на 16-ту добу становила 0,20 ± 0,01 мм² порівняно з 0,41 ± 0,01 мм² із використанням композиції на основі колагену з луски риб.

Таблиця 1

Вплив композицій на основі колагену на площу повношарових вирізаних площинних ран у динаміці загоєння ($M \pm m, n = 6$)

| Доба | Площа рани, мм ² | | |
|------|-----------------------------|--|---|
| | Без нанесення композицій | Композиція на основі колагену з <i>D. antarctica</i> | Композиція на основі колагену з луски риб Антарктичного регіону |
| 0 | 110,33±5,00 | 113,82±5,50 | 112,63±5,54 |
| 6 | 80,64±4,21 | 44,56±2,00* | 33,00±1,50* |
| 9 | 36,17±1,80 | 6,94±0,31* | 8,44±0,45* |
| 12 | 18,60±0,81 | 1,50±0,07* | 1,92±0,07* |
| 14 | 7,10±0,30 | 0,61±0,03* | 0,54±0,02* |
| 16 | 2,22±0,11 | 0,20±0,01* | 0,41±0,01* |
| 18 | 0,44±0,02 | Повне загоєння | Повне загоєння |
| 20 | 0,08±0,004 | Повне загоєння | Повне загоєння |
| 22 | Повне загоєння | Повне загоєння | Повне загоєння |

Примітка: * – $p < 0,05$ різниця значуща порівняно з групою тварин без нанесення композицій.

Як видно з табл. 2, застосування обох композицій було найбільш ефективним саме у перший тиждень лікування, оскільки саме у цей період швидкість загоєння була максимальною – $11,56 \pm 0,50$ мм²/добу та $13,28 \pm 0,51$ мм²/добу при нанесенні на ранову поверхню композицій на основі колагену з луски риб Антарктичного регіону та колагену з *D. antarctica*. У групі

тварин, рани яких гоїлися природним шляхом, швидкість загоєння у перший тиждень становила лише $4,94 \pm 0,21$ мм²/добу. Застосування обох композицій на основі колагену з *D. antarctica* та луски риб Антарктичного регіону обумовлювало регенерацію шкіри без ознак формування гіпертрофічного рубця, з нормальною пігментацією та відновлення волоссяного покриву.

Таблиця 2

Вплив композицій на основі колагену на швидкість загоєння повношарових вирізаних площинних ран у динаміці процесу гоєння ($M \pm m, n = 6$)

| Доба | Швидкість загоєння рани, мм ² /доба | | |
|-------|--|--|---|
| | Без нанесення композицій | Композиція на основі колагену з <i>D. antarctica</i> | Композиція на основі колагену з луски риб Антарктичного регіону |
| 0-6 | 4,94±0,21 | 11,56±0,50* | 13,28±0,51* |
| 6-9 | 14,83±0,74 | 12,53±0,60 | 8,19±0,35* |
| 9-12 | 5,83±0,29 | 1,78±0,08* | 2,17±0,10* |
| 12-14 | 5,75±0,25 | 0,46±0,02* | 0,71±0,02* |
| 14-16 | 2,46±0,11 | 0,23±0,01* | 0,04±0,002* |
| 16-18 | 0,92±0,045 | Повне загоєння | Повне загоєння |
| 18-20 | 0,17±0,06 | Повне загоєння | Повне загоєння |
| 20-22 | Повне загоєння | Повне загоєння | Повне загоєння |

Примітка: * – $p < 0,05$ різниця значуща порівняно з групою тварин без нанесення композицій.

Зважаючи на багатофункціональність колагену, виявлені нами ефекти композицій на основі колагену щодо покращення динаміки загоєння можуть бути наслідком його комплексного впливу та здатності тією чи іншою мірою впливати на всі стадії процесу гоєння. Зокрема, ряд експериментів *in vitro* та *in vivo* продемонстрував здатність колагену викликати міграцію кератиноцитів та фібробластів до ранового ложа (Naomi, & Fauzi, 2020; Bretschneider et al., 2021), що сприяє санції та реепітелізації рани. Згідно з літературними даними (Fu et al., 2013; Boraschi-Diaz et al., 2017) колаген як у вигляді потрійної спіралі, так і деградованих форм, слугує лігандом для ряду рецепторів, з-поміж яких рецептори тирозинкінази, зокрема, рецептори домену дискоїдину DDR-1 та DDR-2, комплекс лейкоцитарних рецепторів (LRC), які регулюють ключові процеси загоєння ран. Доведено, що колаген I типу також ефективно стимулює ангиогенез, взаємодіючи зі специфічними рецепторами інтегрину, зокрема, С-пропептидний фрагмент колагену рекрутує ендотеліальні клітини, потенційно ініціюючи ангиогенез (Kisling, Lust, & Katwa, 2019).

Наочним підтвердженням ранозагоєвального ефекту досліджуваних композицій слугують фотографії (рис. 2), які відображають процес гоєння ран у певних часових точках процесу загоєння. Як бачимо, для третьої доби характерний посттравматичний запальний процес, краї рани набрякли, а саме ранове ложе вкрите товстими кірками, більш вираженими у тварин, рани яких гоїлися природним шляхом. На 14-ту добу експерименту, яка відповідає фазі рубцювання та епітелізації, спостерігається істотне зменшення площі ран у тварин, яким наносили аплікації на основі колагену, видно ознаки грануляційної тканини, вкритої з країв епітелієм. Візуальний огляд ран на 18-ту добу свідчить, що лікування вирізаних площинних ран із використанням композицій на основі колагену, одержаного з гідробіонтів Антарктичного регіону, приводить до скорочення термінів загоєння і протікає без формування рубців. Застосування композицій виявилось найбільш ефективним у перший тиждень після моделювання ран.

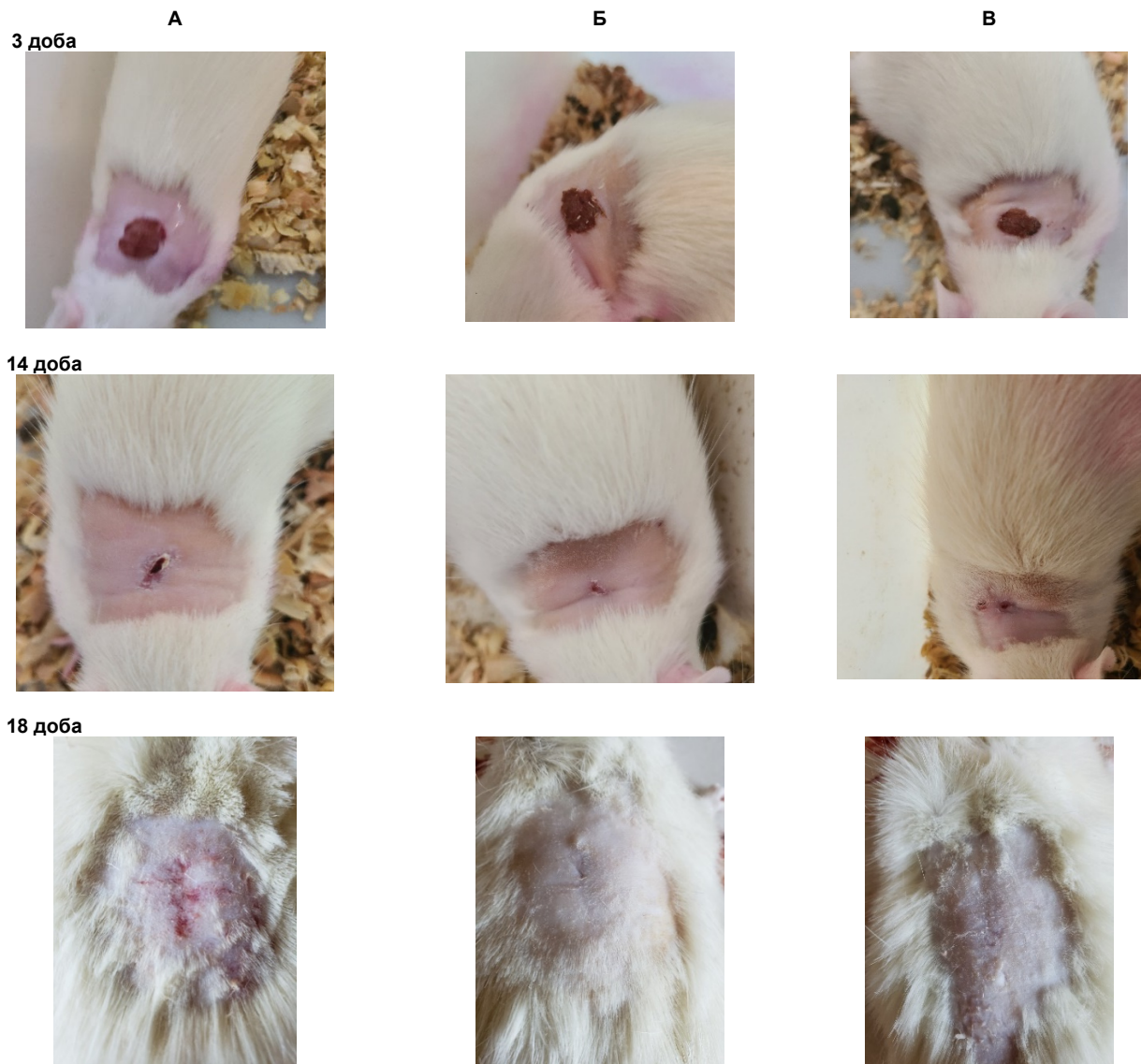


Рис. 2. Фотографії вирізаних площинних ран у динаміці загоєння:
А – без нанесення композицій; Б – композиція на основі колагену з *D. antarctica*;
В – композиція на основі колагену з луски риб Антарктичного регіону

Дискусія і висновки

Отже, отримані нами результати дозволяють зробити висновок про певний ранозагоювальний ефект композицій на основі колагену, екстрагованого з луски риб Антарктичного регіону та з *D. antarctica*, що, з одного боку, обґрунтовує можливість його використання щодо створення вітчизняних засобів для лікування ранових уражень чи косметологічних засобів. З іншого боку, такі результати окреслюють можливі шляхи використання відходів рибної промисловості, зокрема, луски, а також непромислових видів гідробіонтів як сировини для отримання колагену.

Внесок авторів: Наталія Ракша – дизайн дослідження, виконання досліджень, написання статті; Наталія Нікітіна – виконання досліджень, аналіз отриманих результатів; Людмила Степанова – виконання досліджень, аналіз отриманих результатів; Тетяна Берегова –формулювання концепції дослідження.

Список використаних джерел

Almadani, Y. H., Vorstenbosch, J., Davison P. G., & Murphy, A. M. (2021). Wound Healing: A Comprehensive Review. *Semin Plast Surg*, 35(3), 141–144. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731791>

Boyko, T. V., Longaker, M. T., & Yang, G. P. (2018). Review of the current management of pressure ulcers. *Adv Wound Care*, 7(2), 57–67.

Bretschneider, H., Quade, M., Lode, A., Gelinsky, M., Rammelt, S., & Vater, C. (2021). Chemotactic and Angiogenic Potential of Mineralized Collagen Scaffolds Functionalized with Naturally Occurring Bioactive Factor Mixtures to Stimulate Bone Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(11), 5836. <https://doi.org/10.3390/ijms22115836>

Boraschi-Diaz, I., Wang, J., Mort, J. S., & Komarova, S. V. (2017). Collagen Type I as a Ligand for Receptor-Mediated Signaling. *Front. Phys. Sec. Medical Physics and Imaging*, 5(12). <https://doi.org/10.3389/fphy.2017.00012>

Cruz, M. A., Araujo, T. A., Avanzi, I. R., Parisi, J. R., de Andrade, A. L. M., & Rennó, A. C. M. (2021). Collagen from marine sources and skin wound healing in animal experimental studies: A Systematic Review. *Mar. Biotechnol.*, 23, 1–11.

Fu, H. L., Vailathan, R. R., Arkwright, R., Sohail, A., Mihai, C., & Kumarasiri, M. (2013). Discoidin domain receptors: unique receptor tyrosine kinases in collagen-mediated signaling. *J Biol Chem*, 288, 7430–7437. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.444158>

Geahchan, S., Baharlouei, P., & Rahman, A. (2022). Marine Collagen: A Promising Biomaterial for Wound Healing, Skin Anti-Aging, and Bone Regeneration. *Mar Drugs*, 20(1), 61. <https://doi.org/10.3390/md20010061>

Kisling, A., Lust, R.M., & Katwa, L.C. (2019). What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci.*, 228, 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.042>

Mathew-Steiner, S. S., Roy, S., & Sen, C. K. (2021). Collagen in Wound Healing. *Bioengineering (Basel)*. 8(5), 63. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8050063>

Naomi, R., & Fauzi, M.B. (2020). Cellulose/Collagen Dressings for Diabetic Foot Ulcer: A Review. *Pharmaceutics*, 12, 881. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090881>

Shenoy, M., Abdul, N. S., Qamar, Z., Al Bahri, B. M., Al Ghalayini, K. Z. K., & Kakti, A. (2022). Collagen structure, synthesis, and its applications: a systematic review. *Cureus*, 14(5), e24856.

Singh, D., Rai, V., & Agrawal, D. K. (2023). Regulation of Collagen I and Collagen III in Tissue Injury and Regeneration. *Cardiol. Cardiovasc. Med.*, 7(1), 5–16.

Song, E., Kim, S.Y., Chun, T., Byun, H. J., & Lee, Y.M. (2006). Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility. *Biomaterials*, 27, 2951–2961. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.015>

Taburets, O.V., Morgaienko, O.O., Kondratyuk, T.O., Beregova, T.V., & Ostapchenko, L.I. (2017). The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*, 7(3), 2031–2038. https://doi.org/10.17721/1728_2748.2019.77.83-86

Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *OpenBiol*, 10(9), 200223. <https://doi.org/10.1098/rsob.200223>

Yamada, S., Yamamoto, K., Ikeda, T., Yanagiguchi, K., & Hayashi, Y. (2014). Potency of fish collagen as a scaffold for regenerative medicine. *Bio. Med. Res. Int.*, 302932.

Zhang, F., Wang, A., Li, Z., He, S., & Shao, L. (2011). Preparation and characterisation of collagen from fresh water fishscales. *Food Nutr. Sci.*, 2, 818–823.

Zeng, S., Yin, J., Yang, S., Zhang, C., Yang, P., & Wu, W. (2012). Structure and characteristics of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of cobia (*Rachycentron canadum*). *Food Chem.*, 135(3), 1975–1984.

References

Almadani, Y. H., Vorstenbosch, J., Davison P. G., & Murphy, A. M. (2021). Wound Healing: A Comprehensive Review. *Semin Plast Surg*, 35(3), 141–144. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731791>

Boyko, T. V., Longaker, M. T., & Yang, G. P. (2018). Review of the current management of pressure ulcers. *Adv Wound Care*, 7(2), 57–67.

Bretschneider, H., Quade, M., Lode, A., Gelinsky, M., Rammelt, S., & Vater, C. (2021). Chemotactic and Angiogenic Potential of Mineralized Collagen Scaffolds Functionalized with Naturally Occurring Bioactive Factor Mixtures to Stimulate Bone Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(11), 5836. <https://doi.org/10.3390/ijms22115836>

Boraschi-Diaz, I., Wang, J., Mort, J. S., & Komarova, S. V. (2017). Collagen Type I as a Ligand for Receptor-Mediated Signaling. *Front. Phys. Sec. Medical Physics and Imaging*, 5(12). <https://doi.org/10.3389/fphy.2017.00012>

Cruz, M. A., Araujo, T. A., Avanzi, I. R., Parisi, J. R., de Andrade, A. L. M., & Rennó, A. C. M. (2021). Collagen from marine sources and skin wound

healing in animal experimental studies: A Systematic Review. *Mar. Biotechnol.*, 23, 1–11.

Fu, H. L., Valiathan, R. R., Arkwright, R., Sohail, A., Mihai, C., & Kumarasiri, M. (2013). Discoidin domain receptors: unique receptor tyrosine kinases in collagen-mediated signaling. *J Biol Chem*, 288, 7430–7437. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.444158>

Geahchan, S., Baharlouei, P., & Rahman, A. (2022). Marine Collagen: A Promising Biomaterial for Wound Healing, Skin Anti-Aging, and Bone Regeneration. *Mar Drugs*, 20(1), 61. <https://doi.org/10.3390/md20010061>

Kisling, A., Lust, R.M., & Katwa, L.C. (2019). What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci.*, 228, 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.042>

Mathew-Steiner, S. S., Roy, S., & Sen, C. K. (2021). Collagen in Wound Healing. *Bioengineering (Basel)*, 8(5), 63. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8050063>

Naomi, R., & Fauzi, M.B. (2020). Cellulose/Collagen Dressings for Diabetic Foot Ulcer: A Review. *Pharmaceutics*, 12, 881. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090881>

Shenoy, M., Abdul, N. S., Qamar, Z., Al Bahri, B. M., Al Ghalayini, K. Z. K., & Kakti, A. (2022). Collagen structure, synthesis, and its applications: a systematic review. *Cureus*, 14(5), e24856.

Singh, D., Rai, V., & Agrawal, D. K. (2023). Regulation of Collagen I and Collagen III in Tissue Injury and Regeneration. *Cardiol. Cardiovasc. Med.*, 7(1), 5–16.

Song, E., Kim, S.Y., Chun, T., Byun, H. J., & Lee, Y.M. (2006). Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility. *Biomaterials*, 27, 2951–2961. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.015>

Taburets, O.V., Morgaienko, O.O., Kondratyuk, T.O., Beregova, T.V., & Ostapchenko, L.I. (2017). The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*, 7(3), 2031–2038. https://doi.org/10.17721/1728_2748.2019.77.83-86

Wilkinson, H. N., & Hardman, M. J. (2020). Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *OpenBiol*, 10(9), 200223. <https://doi.org/10.1098/rsob.200223>

Yamada, S., Yamamoto, K., Ikeda, T., Yanagiguchi, K., & Hayashi, Y. (2014). Potency of fish collagen as a scaffold for regenerative medicine. *Bio. Med. Res. Int.*, 302932.

Zhang, F., Wang, A., Li, Z., He, S., & Shao, L. (2011). Preparation and characterisation of collagen from fresh water fishscales. *Food Nutr. Sci.*, 2, 818–823.

Zeng, S., Yin, J., Yang, S., Zhang, C., Yang, P., & Wu, W. (2012). Structure and characteristics of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of cobia (*Rachycentron canadum*). *Food Chem.*, 135(3), 1975–1984.

Отримано редакцію журналу / Received: 20.05.24
Прорецензовано / Revised: 21.06.24
Схвалено до друку / Accepted: 21.06.24

Nataliia RAKSHA¹, DSc (Biol.)
 ORCID ID: 0000-0001-6654-771X
 e-mail: nkudina@ukr.net

Nataliia NIKITINA¹, PhD
 ORCID ID: 0000-0003-4209-5741
 e-mail: nikitina18@ukr.net

Liudmila STEPANOVA¹, PhD (Biol.)
 ORCID ID: 0000-0002-8833-9409
 e-mail: ulunga@ukr.net

Tetayna BEREGOVA¹, DSc (Biol.)
 ORCID ID: 0009-0001-9976-1891
 e-mail: tetyana_beregova@ukr.net

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

COMPOSITIONS BASED ON COLLAGEN FROM HYDROBIONTS AS POTENTIAL WOUND HEALING AGENTS

Background. The work was devoted to the study of compositions based on collagen extracted from hydrobionts as potential wound healing agents. The scales of Antarctic fish *Champscephalusgunnari*, *Nototheniidae* and the biomass of jellyfish *Diplulmaris antarctica* were used as raw materials for obtaining collagen.

Methods. To obtain collagen, the following steps were done: salting out non-collagen proteins with 10% NaCl, demineralization with 0.4 M HClO₄, extraction of collagen with 0.5 M CH₃COOH, reprecipitation of the obtained collagen with NaCl and CH₃COOH, and lyophilization.

Results. Obtained collagen was collagen type I, which was confirmed by an electrophoretic analysis, in particular, the molecular weight of collagen chains (117 and 110 kDa) and their ratio as 2:1. The wound-healing effect of compositions based on 5% collagen was studied on a model of full-thickness wound in rats. The collagen compositions were prepared on 0.5% carbopol. Application of the compositions began on the third day after modeling the full-thickness wound; the wounds were treated every other day and until complete healing.

Conclusions. A wound-healing effect of collagen-based compositions has been established, manifested in the acceleration of the wound-healing process. Thus, when applying compositions based on collagen from scales and collagen extracted from jellyfish to the wound surface, complete epithelialization of wounds was observed on the 18th day compared to the result in the group of animals where the wounds healed naturally and for which complete healing took place on the 22nd day. Although the composition based on fish scale collagen was more effective in the first week, an assessment of the wound area at the time of complete healing indicates a slightly better wound healing effect of the *D. antarctica* collagen-based composition.

Keywords: collagen, full-thickness wound, wound healing.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; у рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.