



## БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫС ПРИ ГИПОКСИИ

Пономаренко Е.А., Диатроптова М.А., Мхитаров В.А., Золотова Н.А.,  
Михайлова Л.П., Артемьева К.А., Богданова И.М., Макарова О.В.

Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия,  
e-mail: [ponomarenkoea75@mail.ru](mailto:ponomarenkoea75@mail.ru)

### Для цитирования:

Пономаренко Е.А., Диатроптова М.А., Мхитаров В.А., Золотова Н.А., Михайлова Л.П., Артемьева К.А., Богданова И.М., Макарова О.В. Биохимическая и молекулярно-биологическая характеристика культуры дермальных фибробластов крыс при гипоксии. Морфологические ведомости. 2022;30(4):720. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30\(4\).720](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30(4).720)

**Резюме.** Культура клеток дермальных фибробластов является удобной моделью для исследования различных воздействий на клетки, включая гипоксию. Фибробласты, кроме продукции коллагена, способны синтезировать биогенные амины, гормоны, нейропептиды и нейротрансмиттеры, идентичные таковым в центральной нервной и эндокринной системе, что позволяет использовать их для исследования клеточных нарушений при различных заболеваниях. Цель исследования - с помощью биохимических и молекулярно-биологических методов оценить функциональные изменения культуры дермальных фибробластов в условиях гипоксии. В клетках культуры фибробластов при нормоксии (воздух и 5% CO<sub>2</sub> в условиях инкубатора) и гипоксическом воздействии (смесь газов - 95% N<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>) продолжительностью 1 и 3 часа с помощью биохимических методов определяли активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), уровень глюкозы, концентрации АТФ, АДФ, АМФ, а также методом полимеразной цепной реакции уровень экспрессии мРНК фактора индуцируемого гипоксией Hif-1α и нуклеарного фактора NF-κB. Показано, что при гипоксическом воздействии в течение 1 часа в культуре фибробластов снижаются жизнеспособность клеток, уровень глюкозы и активность ЛДГ, АлАТ, АсАТ, уменьшается количество АТФ, через 3 часа отмечается тенденция к нормализации всех показателей. Адаптационные механизмы позволяют нормализовать функционирование клеток в условиях гипоксии от 1 до 3 часов. Результаты, полученные при оценке метаболических изменений в разные сроки гипоксического воздействия (1 и 3 часа) в культуре фибробластов крыс, свидетельствуют о высоких адаптационных возможностях клеток соединительной ткани - фибробластов при недостатке кислорода. Исследование внутриклеточных показателей при гипоксии, определение критических точек в зависимости от времени воздействия позволит определить направления дальнейшего изучения механизмов адаптации клеток, что, возможно, дополнит тактику компенсаторных воздействий при ишемии тканей различного генеза. Выявленные изменения отражают адаптивную реакцию культуры фибробластов в ответ на гипоксическое воздействие.

**Ключевые слова:** фибробласты; культура клеток; гипоксия; ферменты; крысы

Статья поступила в редакцию 12 мая 2022  
Статья принята к публикации 23 декабря 2022

## BIOCHEMICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF RAT'S DERMAL FIBROBLAST CULTURE IN HYPOXIA

Ponomarenko EA, Diatroptova MA, Mkhitarov VA, Zolotova NA, Mikhaylova LP, Artem'eva KA, Bogdanova IM, Makarova OV

Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia, e-mail: [ponomarenkoea75@mail.ru](mailto:ponomarenkoea75@mail.ru)

### For the citation:

Ponomarenko EA, Diatroptova MA, Mkhitarov VA, Zolotova NA, Mikhaylova LP, Artem'eva KA, Bogdanova IM, Makarova OV. Biochemical and molecular biological characterization of rat's dermal fibroblast culture in hypoxia. Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2022;30(4):720. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30\(4\).720](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2022.30(4).720)

**Summary.** Dermal fibroblast cell culture is a convenient model for studying various effects on cells, including hypoxia. Fibroblasts, in addition to collagen production, are able to synthesize biogenic amines, hormones, neuropeptides, and neurotransmitters identical to those in the central nervous and endocrine systems, which allows them to be used to study cellular disorders in various diseases. The purpose of the study was to evaluate the functional changes in the culture of dermal fibroblasts under hypoxic conditions using biochemical and molecular biological methods. In cells of fibroblast culture under normoxia (air and 5% CO<sub>2</sub> in an incubator) and hypoxic exposure (a mixture of gases - 95% N<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>) at 1 and 3 hours, biochemical methods were used to determine the activity of aspartate aminotransferase (AsAT), alanine aminotransferase (AlAT), gamma-glutamyl transferase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH), glucose levels, concentrations of ATP, ADP, AMP, as well as the level of mRNA expression of the hypoxia-induced factor Hif-1α and the nuclear factor NF-κB by polymerase chain reaction. It was shown that under hypoxic exposure at 1 hour in fibroblast culture, cell viability, glucose levels and activity of LDH, AlAT, AsAT decrease, the amount of ATP decreases, after 3 hours there is a tendency to normalize all indicators. Adaptive mechanisms make it possible to normalize the functioning of cells under hypoxic conditions from 1 to 3 hours. The results obtained in the evaluation of metabolic changes at different times of hypoxic exposure (1 and 3 hours) in the culture of rat fibroblasts indicate a high adaptive capacity of connective tissue cells - fibroblasts at a lack of oxygen. The study of intracellular parameters during hypoxia, the deter-

mination of critical points depending on the time of exposure will determine the directions for further study of the mechanisms of cell adaptation, which, perhaps, will complement the tactics of compensatory effects in ischemia of tissues of various genesis. The revealed changes reflect the adaptive response of the fibroblast culture in response to hypoxic exposure.

**Keywords:** *fibroblasts; cell culture; hypoxia; enzymes; rats*

Article received 12 May 2022  
Article accepted 23 December 2022

**Введение.** Культура клеток фибробластов является уникальной моделью для изучения реакции клеток на адаптивные и повреждающие воздействия, включая гипоксию [1]. Фибробласты, кроме продукции коллагена, способны синтезировать биогенные амины, гормоны, нейропептиды и нейротрансмиттеры, идентичные таковым в центральной нервной и эндокринной системе, что позволяет использовать их для исследования нарушений на клеточном уровне при различных заболеваниях. Например, было обнаружено, что фибробласты кожи пациентов с болезнью Паркинсона по сравнению со здоровыми лицами продуцируют в несколько раз больше пептида A $\beta$ 42 и  $\alpha$ -синуклеина, что наблюдается и в нейронах черной субстанции головного мозга [2]. Культуру клеток фибробластов применяют при изучении заживления кожных ран. Так, на стадии раневого воспаления запускается каскад реакций между кератиноцитами и фибробластами. После повреждения кожи фибробласты синтезируют провоспалительные цитокины, в частности, интерлейкин-1. При раневом воспалении вслед за повышением экспрессии интерлейкина-1 возрастает экспрессия генов фактора роста кератиноцитов, интерлейкина-6, эндотелина-1, гепарин-связывающего фактора и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста, что приводит к активации пролиферации и дифференцировки кератиноцитов. Моделирование этого взаимодействия в культуре клеток позволяет исследовать основные механизмы заживления, эпителизации ран и формирования гипертрофического рубца [3-4].

В эксперименте на культуре дермальных фибробластов больных склеродермией условия гипоксии моделировали с помощью смеси газов или применении хлорида кобальта (CoCl<sub>2</sub>), химического индуктора фактора, индуцируемого

гипоксией (Hypoxia-Inducible Factor - HIF-1 $\alpha$ ). Авторы установили, что активация HIF-1 $\alpha$  приводит к повышению экспрессии фактора роста соединительной ткани (Connective Tissue Growth Factor - CTGF), стимулирующего образование коллагена в дерме [5]. При гипоксии в клетках активируется гликолиз и снижается синтез АТФ, изменяется их синтетическая активность [6-8]. Так, например, было выявлено, что в культуре фибробластов при гипоксическом воздействии в течение 1 часа продукция эластина и коллагена не изменялась, а при гипоксии длительностью 12 часов отмечалось угнетение их синтеза [1]. Таким образом, культивирование фибробластов в системе *in vitro* позволяет в динамике оценивать функциональные изменения клеток при гипоксии разной длительности.

**Цель исследования:** с помощью биохимических и молекулярно-биологических методов оценить функциональные изменения культуры дермальных фибробластов в условиях гипоксии.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали 10 самцов крыс Вистар в возрасте 8–10 недель и массой тела 160–180 г, полученных из филиала «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России. На проведение исследования было получено разрешение биоэтической комиссии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына (протокол № 12 от 19.09.2021). Животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации под эфирным наркозом. Для получения культуры фибробластов у крыс проводили забор кожного лоскута размерами 1×1 см в области спины, удаляли эпидермис и подкожную клетчатку. Кожу измельчали и помещали в среду с коллагеназой II типа (Gibco № 17101-015, США) в концентрации 5 мг/мл на 2 ч в CO<sub>2</sub>-

инкубатор. Клетки ресуспендировали в полной питательной среде и помещали в чашку Петри [9-10]. В течение 10 дней формировался полный монослой клеток. Исследовали три группы культур: фибробласты, культивируемые при нормоксии (контроль, n=10) и гипоксии в течение 1 часа (n=10) и 3 часа (n=10).

Моделирование условий гипоксии выполняли с помощью герметичной камеры с установленным датчиком концентрации кислорода. В камеру помещали культуры клеток при 37°C на 1 и 3 часа и заполняли смесью газов (95% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) до конечной нулевой концентрации O<sub>2</sub> [8]. Дермальные фибробласты контрольной группы культивировали в стандартных условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора (воздух с 5% содержанием CO<sub>2</sub>, при 37°C). В работе использовали клетки 4-го пассажа. Жизнеспособность клеток определяли с помощью окрашивания трипановым синим и эозином. К 200 мкл 0,1% трипанового синего и 200 мкл 0,1% эозина («Биохиммак», Россия) добавляли суспензию клеток в объеме 100 мкл.

В культуре фибробластов крыс методом ПЦР в режиме реального времени определяли уровень экспрессии мРНК Hif-1α, Nf-κB. Выделение РНК проводили на колонках с применением набора «Биолабмикс». Обратную транскрипцию выполняли с помощью набора «MMLV RT Kit» («Евроген»). С использованием смеси для ПЦР qPCRmix-HS SYBR («Евроген») определяли уровень экспрессии мРНК Hif-1α, Nf-κB относительно уровня экспрессии мРНК β2-микроглобулина (β2m) на приборе «DTprime» фирмы «ДНК-Технология». Использовали праймеры «Евроген»: Hif-1α f – GAGCCTTAACCTATCTGTCA, r – CACAATCGTAACTGTCTCAGC; Nf-κB f – GACGATCCTTTCGGAACTG, r – GCATATGCCGTCTCACAG; β2m f – CTCGCTCGGTGACCGTGAT, r – GGACA GATCTGACATCTCGA. Относительную концентрацию мРНК указанных генов рассчитывали методом прямого сравнения данных по формуле:  $[A]_0/[B]_0 = E^{\Delta C(T)}$ , где  $[A]_0$  – начальная концентрация мРНК гена в ПЦР-смеси,  $[B]_0$  – начальная концентрация мРНК β2m в ПЦР-смеси, E – эффективность реакции (принимали

равной 1,98),  $\Delta C(T)$  – разность пороговых циклов β2m и искомого гена в программе «REST 2009» [11]. Количество клеток на пробу для биохимического исследования различалось, но объем раствора Дульбекко составлял 500 мкл. Далее клетки разрушали путем последовательного трехкратного замораживания и размораживания при -70°C, центрифугировали и надосадочную жидкость переносили в пробирки. Измерения проводили с помощью автоматического анализатора «Mindray BS-120» (Mindray, Китай). Измеряли активность ферментов аспаратаминотрансферазы (далее АсАТ), аланинаминотрансферазы (далее АлАТ), гамма-глутамилтрансферазы (далее - ГГТ), лактатдегидрогеназы (далее - ЛДГ), уровень глюкозы – глюкозооксидазным методом, белка – пирогаллоловым методом, используя наборы реактивов «Human Diagnostics GmbH» (Human, Германия). Результаты нормировали на 1×10<sup>6</sup> клеток. Содержание АТФ, АДФ, АМФ определяли в клетках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Суспензию клеток с их известным количеством центрифугировали, к осадку для экстракции АТФ, АДФ, АМФ добавляли 475 мкл 70% HClO<sub>4</sub> (258 мкл HClO<sub>4</sub>, 20 мкл 0,5M Na<sub>2</sub>EDTA, доводили до 10 мл водой) и тщательно пипетировали. Затем раствор нейтрализовали добавлением 85 мкл 2M KOH. Суспензию центрифугировали при 14000g, 10 мин при 4°C. Пробы надосадочной жидкости замораживали и хранили при -70°C в течение 1 месяца [12]. Анализ проводили на жидкостном хроматографе Prominence-I LC-2030C 3D Plus с диодно-матричным детектором (Shimadzu, Япония) с использованием колонки 125×4 мм, 3μm (Purospher STAR RP-18 endcapped, Merck, Германия).

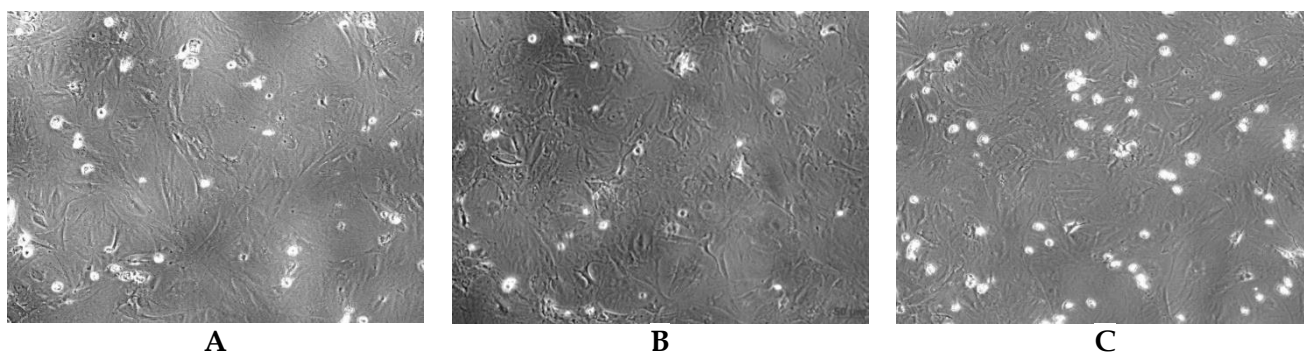
Подвижная фаза «А»: 0,2M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH=5,0), подвижная фаза «В»: смесь вода-ацетонитрил-метанол (50:25:25). Градиентное элюирование: 1 мин 1% «В», далее увеличивали до 35% в течение 3 мин, затем снова уменьшали до 1% за 2 мин и далее элюировали в таком же режиме до 8 мин перед следующим измерением. Условия проведения хроматографии: температура колонки – 30°C, скорость потока 1 мл/мин, длина волны детектирования –

254 нм, объем пробы – 5μл. Результаты представляли в мкмоль/л в объеме пробы 560 мкл, затем их стандартизировали на количество клеток  $1 \times 10^6$ .

Непрерывные количественные данные описывали медианой и квартилями (Q25% и Q75% или Q1;Q3). Дисперсионный анализ проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса. При наличии статистической разницы применяли попарное сравнение групп. При множественном сравнении групп применяли поправку Бонферрони. Нулевая гипотеза отвергалась при ошибке первого рода менее 5% с учетом эффекта множественного сравнения для трех групп на уровне  $p < 0,017$ .

#### Результаты исследования и их об-

**суждение.** В эксперименте нами использованы клеточные культуры дермальных фибробластов в фазе плато, морфологическая характеристика фибробластов в зависимости от времени воздействия гипоксии представлена на рисунках 1А, 1В, 1С. Культура клеток фибробластов после воздействия гипоксии в течение 1 часа характеризуется уменьшением размеров клеток, их очертания приобретают вытянутую форму с множеством извитых отростков с неровными, фестончатыми краями. По сравнению с контролем, в цитоплазме некоторых клеток определяется множество вакуолей. При воздействии гипоксии на культуру фибробластов в течение 3 часов каких-либо морфологических отличий не выявлено.



**Рис. 1.** Микрофото культуры дермальных фибробластов крысы. Обозначения: А – контроль; В, С – воздействие гипоксии (В – 1 час, С – 3 часа). Фазово-контрастная микроскопия. Ув.:  $\times 200$

Базовым показателем любого воздействия на клетки, в том числе и гипоксии, является их жизнеспособность. При воздействии гипоксии на культуру дермальных фибробластов крыс отмечалось снижение жизнеспособности клеток через 1 час культивирования по сравнению с контролем, статистически значимых различий не выявлено ( $p=0,66$ ), а через 3 часа – повышение показателей по сравнению с 1 часом культивирования в условиях гипоксии ( $p=0,0005$ ). Между показателями контрольной группы и 3 часами культивирования в условиях гипоксии отмечалась тенденция к статистически значимому увеличению жизнеспособности клеток на уровне  $p=0,06$  (табл. 1).

В культуре клеток фибробластов проведено определение уровня экспрессии мРНК Hif-1a, Nf-kb (табл. 2). При ана-

лизе уровня Hif-1a в разные сроки воздействия гипоксии выявлено, что экспрессия этого гена при гипоксии не отличалась от контроля, а при воздействии гипоксии в течение 3 часов показатель снижался, но статистически значимых различий по сравнению с контролем не установлено. Экспрессия Nf-kb в культуре клеток дермальных фибробластов, подвергшихся гипоксии в течение 1-го и 3-х часов, по сравнению с контролем статистически значимо не изменялась.

Результаты определения биохимических показателей представлены в табл. 3. Установлено, что через 1 час культивирования дермальных фибробластов животных в условиях гипоксии уровень глюкозы достоверно не изменялся по сравнению с контролем ( $p=0,14$ ), а через 3 часа возрастал ( $p=0,08$ ).

Таблица 1

**Жизнеспособность дермальных фибробластов крыс в культуре при нормоксии и гипоксии продолжительностью 1 час и 3 часа, Me(Q1;Q3)**

Показатель	Группы наблюдений			
	Контроль (*n=8)	Гипоксия		**p=
		1 час (*n=10)	3 часа (*n=10)	
Жизнеспособность (%)	97(96;97)	95(93;97)	99(98;100)	0,0006

Примечания: \* - число образцов, \*\* - уровень достоверности различий по критерию Краскела–Уоллиса

Таблица 2

**Уровень экспрессии м-РНК Hif-1a и Nf-kb в культуре дермальных фибробластов крыс при нормоксии и гипоксии продолжительностью 1 час и 3 часа, Me(Q1;Q3)**

Показатели	Группы наблюдений			
	Контроль (*n=8)	Гипоксия		**p=
		1 час (*n=9)	3 часа (*n=10)	
Экспрессия Nf-kb	0,007(0,005;0,06)	0,007(0,006;0,012)	0,005(0,004;0,006)	0,26
Экспрессия Hif-1a	0,02(0,007;0,04)	0,03(0,01;0,03)	0,009(0,008;0,013)	0,34

Примечания: \*, \*\* - см. примечания к таблице 1

Активность ЛДГ в клетках падала через 1 час при культивировании в условиях гипоксии по сравнению с контрольной группой ( $p=0,01$ ) и возрастала через 3 часа ( $p=0,37$ ) по сравнению с однократным гипоксическим воздействием. Выявлялось уменьшение активности АлАТ в клетках культуры дермальных фибробластов при гипоксическом воздействии в течение 1 часа по сравнению с контрольной группой ( $p=0,02$ ), через 3 часа гипоксии отмечалось увеличение активности фермента, но статистических различий по сравнению с гипоксией в течение 1 часа не обнаружено. Также снижалась активность АсАТ при культивировании культуры в течение 1 часа в условиях гипоксии ( $p=0,02$ ). Статистических различий показателей активности АсАТ в течение 1-го или 3-х часов гипоксии в клетках культуры фибробластов не обнаружено ( $p=0,62$ ). Различия изменений показателей активности ГТТ были статистически не значимыми. Количество АТФ статистически значимо снижалось в клетках культуры дермальных фибробластов при гипоксии в течение 1 часа ( $p=0,02$ ), а при гипоксии продолжительностью 3 часа отмечалась тенденция к увеличению показателя количества АТФ по сравнению с 1 часом гипоксии ( $p=0,06$ ).

При измерении АДФ определялось уменьшение его в клетках культуры фибробластов при гипоксии продолжительностью 1 и 3 часа по сравнению с контрольной группой, но статистически значимо эти показатели не различались ( $p=0,07$  и  $p=0,39$ , соответственно). Уровень АМФ в группах исследования не различался (табл. 4). Через 1 час гипоксического воздействия отмечается снижение жизнеспособности клеток, уровня глюкозы и АТФ и активности ферментов ЛДГ, АлАТ, АсАТ. При гипоксическом воздействии в течение 3 часов жизнеспособность клеток была выше, чем в контроле, но различия были статистически не значимыми, наблюдали тенденцию к восстановлению уровня глюкозы в клетках. Уровни активности ферментов ЛДГ, АлАТ и АсАТ также демонстрировали процессы восстановления. Уровень АТФ повышался по сравнению с 1 часом культивирования при гипоксии. Культура дермальных фибробластов, как и кожа в целом, характеризуется низкой чувствительностью к гипоксии [13]. В связи с этим, инкубация дермальных фибробластов в условиях гипоксии не вызывала повышения уровня экспрессии индуцируемого гипоксией Hif-1a и сопряженного с ним нуклеарного фактора Nf-kb.

Таблица 3

Биохимические показатели культуры дермальных фибробластов крыс при нормоксии и гипоксии продолжительностью 1 час и 3 часа, Me(Q1;Q3)

Показатели, ед. изм.	Группы наблюдений			
	Контроль (*n=8)	Гипоксия		**p=
		1 час (*n=10)	3 часа (*n=10)	
Глюкоза, ммоль/л	0,21(0,14;0,41)	0,07(0,01;0,15)	0,56(0,06;0,66)	0,04
ЛДГ, ед/л	39(14;60)	9(6;12)	17(9;30)	0,017
Белок, г/л	0,38(0,24;0,46)	0,22(0,18;0,38)	0,25(0,21;0,32)	0,32
АлАТ, ед/л	3,0(1,0;7)	0(0;0,3)	0,3(0;1,6)	0,01
АсАТ, ед/л	15,6(8;34,5)	1,8(0;3,8)	3,8(1,2;19,2)	0,02
ГГТ, ед/л	3,9(3,5;4,8)	3,8(2,8;4,9)	5,2(3,6;6)	0,49

Примечания: \*, \*\* - см. примечания к таблице 1

Таблица 4

Концентрация АТФ, АДФ, АМФ в культуре дермальных фибробластов крыс при нормоксии и гипоксии продолжительностью 1 час и 3 часа, Me(Q1;Q3)

Концентрация (мкмоль/л)	Группы наблюдений			
	Контроль (*n=6)	Гипоксия		**p=
		1 час (*n=5)	3 часа (*n=6)	
АТФ	7,7(6,7;8,2)	4,7(4,4;4,8)	7,7(6,0;8,3)	0,01
АДФ	1,9(1,6;2,2)	1,2(1,0;1,3)	1,4(1,2;2,3)	0,07
АМФ	7,4(6,7;7,8)	7,8(7,1;7,9)	5,8(4,5;7,9)	0,51

Примечания: \*, \*\* - см. примечания к таблице 1

**Закключение.** Таким образом, нами установлено, что в культуре фибробластов при гипоксии в период до 1 часа происходит замедление всех метаболических реакций. Адаптационные механизмы позволяют нормализовать функционирование клеток в условиях гипоксии от 1 часа до 3 часов. Результаты, полученные при оценке метаболических изменений в разные сроки гипоксического воздействия (1 час и 3 часа) в культуре фибробластов крыс, свидетельствуют о высоких адаптационных возможностях клеток соединительной ткани - фибробластов при недостатке O<sub>2</sub>.

Исследование внутриклеточных показателей при гипоксии, определение критических точек в зависимости от времени воздействия, позволит определить направления дальнейшего изучения механизмов адаптации клеток, что, возможно, дополнит тактику компенсаторных воздействий при ишемии тканей различного генеза.

Исследование выполнено в рамках исполнения государственного задания Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, НИОКТР № 122030200530-6.

## Литература References

1. Kuz'micheva VI, Volova LT, Gil'miyarova FN i dr. Fibroblasty kak ob'ekt izucheniya proliferatsionnoy aktivnosti in vitro. Nauka i innovatsii v meditsine. 2020;5(3):210-215. In Russian. DOI:10.35693/2500-1388-2020-5-3-210-215
2. Zuev VA, Dyatlova AS, Lin'kova NS et al. Skin fibroblasts as the object for clinical diagnosis of Parkinson's disease in persons of different ages. Bull Exp Biol Med. 2019;167(1):177-181. DOI: 10.1007/s10517-019-04485-1
3. Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. J Invest Dermatol. 2007;127(5):998-1008. DOI: 10.1038/sj.jid.5700786
4. Stunova A, Vistejnova L. Dermal fibroblasts-A heterogeneous population with regulatory function in wound healing. Cytokine Growth Factor Rev. 2018;39:137-150. DOI:10.1016/j.cytogfr.2018.01.003
5. Hong KH, Yoo SA, Kang SS et al. Hypoxia induces expression of connective tissue growth factor in scleroderma skin fibroblasts. Clin Exp Immunol. 2006;14(2):362-70. DOI:10.1111/j.1365-2249.2006.03199.x
6. Luk'yanova LD. Signal'nye mekhanizmy gipoksii. Moskva: RAN, 2019. - 215s. In Russian

7. Bozo IYa, Deev RV, Pinaev GP. «Fibroblast» - spetsializirovannaya kletka ili funktsional'noe sostoyaniye kletok mezenkhimal'nogo proishozhdeniya? Tsitologiya. 2010;52(2):99-109. In Russian
8. Aptekar' IA, Kostolomova EG, Suhovey YuG. Izmeneniye funktsional'noy aktivnosti fibroblastov v protsesse modelirovaniya kompressii, giperkapii i gipoksii. Rossiyskiy osteopatsicheskiy zhurnal. 2019;1-2:72-84. In Russian. DOI: 10.32885/2220-0975-2019-1-2-72
9. Rittie L, Fisher GJ. Isolation and culture of skin fibroblasts. Methods Mol Med. 2005;117:83-98. DOI: 10.1385/1-59259-940-0:083
10. Ponomarenko EA, Diatroptova MA, Artem'eva KA, Shelkov AYU. Optimizatsiya protokola polucheniya kul'tury dermal'nykh fibroblastov krysa. Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya. 2021;10(2):62-69. In Russian. DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.62-69
11. Dzhaliyeva DS, Diatroptov ME, Tsvetkov IS et al. Expression of Hif-1a, Nf-kb, and Vegf Genes in the Liver and Blood Serum Levels of HIF-1a, Erythropoietin, VEGF, TGF-β, 8-Isoprostane, and Corticosterone in Wistar Rats with High and Low Resistance to Hypoxia. Bull Exp Biol Med. 2018;165(6):742-747. DOI: 10.1007/s10517-018-4264-x
12. Menegollo M, Tessari I, Bubacco L, Szabadkai G. Determination of ATP, ADP, and AMP Levels by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography in Cultured Cells. Methods Mol Biol. 2019;1925:23-232. DOI: 10.1007/978-1-4939-9018-4\_19
13. Zarubina IV. Sovremennyye predstavleniya o patogeneze gipoksii i ee farmakologicheskoy korrektsii. Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii. 2011;9(3):31-48. In Russian

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Пonomarenko Елена Алексеевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: ponomarenkoea75@mail.ru**

**иатроптова Марина Анатольевна**, научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: diatrop@inbox.ru**

**Мхитаров Владимир Аршакович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: mkhitarov@mail.ru**

**Золотова Наталья Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: natashazltv@gmail.com**

**Михайлова Лилия Петровна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: mihailova\_l@mail.ru**

**Артемова Ксения Александровна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патологии репродукции, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: sunset\_whitch@mail.ru**

**Богданова Ирина Марковна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции, НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия; **e-mail: malaj43@mail.ru**

**Макарова Ольга Васильевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского; профессор кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия; **e-mail: makarov.olga2013@yandex.ru**

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Elena A. Ponomarenko**, Candidate of Medical Sciences, Senior Scientific Researcher of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: ponomarenkoea75@mail.ru**

**Marina A. Diatroptova**, Scientific Researcher of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: diatrop@inbox.ru**

**Vladimir A. Mkhitarov**, Candidate of Biological Sciences, Leading Scientific Researcher of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: mkhitarov@mail.ru**

**Nataliya A. Zolotova**, Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: natashazltv@gmail.com**

**Liliya P. Mikhaylova**, Doctor of Medical Sciences, Senior Scientific Researcher, Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: mihailova\_l@mail.ru**

**Kseniya A. Artem'eva**, Candidate of Medical Sciences, Scientific Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: sunset\_whitch@mail.ru**

**Irina M. Bogdanova**, Candidate of Biological Sciences, Scientific Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproduction of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery, Moscow, Russia; **e-mail: malaj43@mail.ru**

**Ol'ga V. Makarova**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Immunomorphology of Inflammation of the Academician Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the Academician Petrovsky Scientific Centre of Surgery; Professor of the Department of Cell Biology and Histology of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; **e-mail: makarov.olga2013@yandex.ru**