**БИОТЕХНОЛОГИЯ / BIOTECHNOLOGY**

**DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.10**

# КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ КАК КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ БИОСОВМЕСТИМОСТИ ФИБРОБЛАСТОВ И СКАФФОЛДОВ В СИСТЕМЕ *IN VITRO* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ В АСПЕКТЕ СОЗДАНИЯ ЭКВИВАЛЕНТА КОЖИ

Научная статья

**Антонова Е.И.[1], Фирсова Н.В.[2,] *, Киямова М.Р.[3], Безрукова У.А.[4], Сихарулидзе С.В.[5], Ленгесова Н.А.[6]**
[1] ORCID : 0000-0002-3686-9686;
[2] ORCID : 0000-0002-9907-8857;
[3] ORCID : 0000-0001-7768-7662;
[4] ORCID : 0000-0002-5601-9953;
[5] ORCID : 0000-0002-3053-8421;
[6] ORCID : 0000-0001-7512-6386;
[1, 2, 3, 4, 6] Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии "УлГПУ им. И.Н.Ульянова", Ульяновск, Российская Федерация
[5] Многопрофильная больница "ВМ-клиник", Ульяновск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (n-firsova[at]mail.ru)

**Аннотация**

Проведена оценка динамики показателей клеточного цикла фибробластов в системе in vitro методом проточной цитофлуориметрии в экспериментальной модели по оценке биосовместимости фибробластов со скаффолдами в условиях 2D и 3D-культивирования и биологии фибробластов после воздействия УФ-облучения. Выявлено, что для периода двух недель культивирования лучшая биосовместимосъ клеток наблюдается к скаффолду G-DERM в условиях 2D-культивирования, что может быть связано с физико-химическим составом и пространственным плетением структур данного скаффолда. УФ-облучение в течение 30 сек вызывает остановку клеточного цикла как компенсаторно приспособительная реакция клеток в ответ на повреждающее действие облучения.

**Ключевые слова:** клеточный цикл, скаффолды, УФ-излучение, фибробласт, эквивалент кожи.

# CELL CYCLE AS A CRITERION FOR EVALUATING THE BIOCOMPATIBILITY OF FIBROBLASTS AND SCAFFOLDS IN THE IN VITRO SYSTEM AFTER EXPOSURE TO UV IRRADIATION IN TERMS OF CREATING A SKIN EQUIVALENT

Research article

**Antonova E.I.[1], Firsova N.V.[2,] *, Kiyamova M.R.[3], Bezrukova U.A.[4], Sikharulidze S.V.[5], Lengesova N.A.[6]**
[1] ORCID : 0000-0002-3686-9686;
[2] ORCID : 0000-0002-9907-8857;
[3] ORCID : 0000-0001-7768-7662;
[4] ORCID : 0000-0002-5601-9953;
[5] ORCID : 0000-0002-3053-8421;
[6] ORCID : 0000-0001-7512-6386;
[1, 2, 3, 4, 6] Scientific Research Center for Fundamental and Applied Problems of Bioecology and Biotechnology, Ulyanovsk, Russian Federation
[5] Multidisciplinary hospital "VM-clinic", Ulyanovsk, Russian Federation

* Corresponding author (n-firsova[at]mail.ru)

**Abstract**

The dynamics of fibroblast cell cycle parameters in the in vitro system was evaluated by the method of flow cytometry in an experimental model to assess the biocompatibility of fibroblasts with scaffolds in conditions of 2D and 3D cultivation and fibroblast biology after exposure to UV irradiation. It was shown that for the period of two weeks of cultivation, the best cell biocompatibility was observed for G-DERM scaffold under 2D-culture conditions, which may be related to the physicochemical composition and spatial weaving of the structures of this scaffold. UV irradiation for 30 sec causes cell cycle arrest as a compensatory adaptive reaction of cells in response to the damaging effect of irradiation.

**Keywords:** cell cycle, scaffolds, UV radiation, fibroblast, skin equivalent.

## Введение

По мере накопления знаний о биологии клеток в условиях *in vitro*, растет и понимание сложности, неоднородности физиологических, биохимических и молекулярно-генетических программ реализации клеточного ответа на действие повреждающих факторов различного генеза [1], [2], [3]. Для оценки клеточной реактивности в условиях отсутствия единых универсальных маркеров, был установлен общий набор признаков, среди которых анализ клеточного цикла является одним из наиболее информативных [4].

Отмечено, что УФ-облучение и разные условия культивирования в системе in vitro влияют на морфофункциональные показатели клеток [5]. Так, в частности, выявлено прямое мутагенное воздействие УФ-облучения на структуру ДНК, на возникновение мутаций туморсупрессорных генов, на увеличение продукции АФК. В

то же время УФ-излучение оказывает активирующее действие на синтез клетками кожи факторов роста, пролиферации и т.д. [6], [7]. Известно, что заболевание меланомой кожи находится в прямой зависимости не только от длительности, но и от интенсивности УФ-облучения, даже относительно кратковременное, но высокой интенсивности облучение вызывает мощный канцерогенный эффект [8].

Наряду с внешним воздействием, на биологию клеток в условиях in vitro оказывают влияние разные условия культивирования, к которым можно отнести биосовместимость клеток со скаффолдами. В настоящее время существует большое количество фундаментальных исследований биосовместимости скаффолдов с клетками кожи в аспекте создания эквивалентов поврежденных тканей и органов для регенеративной медицины [9], [10]. Однако поиск оптимальных решений для практического применения все еще ведется. Одним из показателей биосовместимости является анализ клеточного цикла, его динамика и механизмы регуляции. В частности, известно, что наиболее уязвимы клетки в S-фазе и в период пролиферации - G2-M [11], [12].

Фибробласты представляют собой гетерогенную популяцию клеток кожи, что определяется топографической локализацией в организме и нахождением в фибробластическом диффероне [13], это в свою очередь определяет сложность интерпретации динамики показателей клеточного цикла. Так, в дерме кожи человека выделяют митотически активные и постмитотические фибробласты. Даже фибробласты одного анатомического участка, но разных слоев (сосочкового и сетчатого) имеют различия в клеточной морфологии, пролиферативном потенциале, продукции внеклеточного матрикса, продукции и реакции на факторы роста и цитокины [14]. Существующие различия в динамике клеточного цикла фибробластов необходимы для поддержания тканевого гомеостаза [15]. Гетерогенность фибробластов основана на вариабельности экспрессии генома под воздействием факторов микроокружения [16]. Иммунофенотипический профиль культивируемых фибробластов кожи в норме соответствует профилю клеток мезенхимного ряда. Они экспрессируют виментин, CD44, CD49b, CD54, CD90, CD105, не экспрессируют - CD34, CD45, CD133, CD117, HLA-DR, нестин [17].

Таким образом, современные методы исследования в области клеточной и молекулярной биологии дают возможность приблизиться к пониманию тонких механизмов клеточного гомеостаза, способов регуляции клеточного цикла, в связи с этим анализ клеточного цикла остается одним из основных критериев для оценки реактивности клеток на внешние условия. Актуальность изучения биосовместимости скаффолдов и культуры клеток кожи, а также влияния УФ-излучения определяется значимостью для практического применения создаваемых тканевых эквивалентов кожи в регенеративной медицине.

В связи с этим целью настоящего исследования является в двух экспериментальных моделях провести оценку динамики показателей клеточного цикла фибробластов в системе in vitro методом проточной цитофлуориметрии. Первой экспериментальной моделью является оценка биосовместимости фибробластов со скаффолдами в условиях 2D и 3D-культивирования. Вторая экспериментальная модель – оценка биологии фибробластов после воздействия УФ-облучения.

**Материалы и методы исследования**

Материалом для исследования служили лоскуты кожи из области век женщин в возрасте от 38 до 63 лет полученные от доноров после проведения пластических операций. Выделение и культивирование фибробластов проводили по оптимизированному протоколу [18]. Клетки были выделены с использованием механической диссоциации ткани и культивировались во флаконах T25 (TTP, Швейцария) в среде RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ПанЭко, Россия). Формирование конфлюэнтного монослоя контролировали визуально на инвертированном микроскопе Axio Vert. A1 FL с цветной цифровой камерой Axiocam 105 (Carl Zeiss, Германия). При достижении покрытия поверхности флакона на 40% клетки пересевали. Снятие клеток проводили 0,25% раствором трипсина с добавлением ЭДТА (ПанЭко, Россия). В эксперименте использовали клеточные линии третьего пассажа.

Для исследования влияния УФ-облучения на показатели клеточного цикла фибробластов в культуре in vitro, клеточные линии облучали УФ лампой с мощностью 36 Вт (ThermoScientific, США) длиной волны 253,7 нм в течение 30 сек. Для этого в чашку Петри засевали клетки в количестве $1x10^4$ и при достижении покрытия поверхности чашки не менее 50% проводили облучение. Анализ популяции фибробластов в контрольной группе без облучения и экспериментальной с облучением проводили по истечении 24 часов после воздействия.

Для анализа биосовместимости клеточной линии фибробластов со скаффолдами проводили посев фибробластов на носители двух видов - «G-DERM» (ДЖИ-Групп, Россия), который представляет собой биополимер на основе гидроколлоида гиалуроновой кислоты и адгезивного пептидного комплекса; «Transwell» (Corning, Нидерланды) - мембранные вставки из тетрафторэтилена (ПТФЭ) с коллагеновым покрытием. Фибробласты вносили на скаффолды в количестве $1x10^4$ кл/мл. Для этой части работы были сформированы две модели эквивалента кожи в зависимости от используемого скаффолда: CulTw – культура клеток на Transwell, 3D-культивирование и CulGD – культура клеток на G-Derm, 2D-культивирование. Анализ популяции фибробластов проводили на сроке 15 суток культивирования.

Проточная цитофлуориметрия:

- иммунофенотип фибробластов определяли по экспрессии метки CD90 (Beckman Coulter, США), с оценкой доли фибробластов, как клеток мезенхимального происхождения;
- определение доли фибробластов по фазам клеточного цикла - $G_0$-$G_1$, S, $G_2$-M.

Для исследований на цитофлуориметре использовали синий лазер (λ=488 нм). Сбор и обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Flow Max (Partec, Германия) по показателям прямого, бокового рассеяния и интенсивности флуоресценции по четырём каналам (3 канал на синий лазер и 1 канал на фиолетовый).

Подсчет количества жизнеспособных фибробластов проводили с помощью окраски трипановым синим (BioRad, США) с использованием автоматического счетчика клеток «Bio – Rad TC20» (Bio-Rad, США).

Статистическая обработка данных для показателя корреляции проводилась с применением коэффициента Стьюдента при уровне значимости различий p<0,05 в программе Microsoft Excel 2013.

**Результаты и обсуждения**

Анализ динамики показателей клеточного цикла в двух экспериментальных группах выявил отличительные особенности, которые определяются адаптивными механизмами клеточных линий фибробластов в первом случае к скаффолдам, во втором - являются результатом компенсаторной адаптации на действие УФ-облучения.

Клеточная линия фибробластов, которая вносилась на поверхность скаффолдов проявляла иммунофенотип CD90-позитивных клеток, как маркер мезенхимальных стромальных клеток, в количестве 75,7 % в группе CulTW и 88,7% - в группе CulGD (см. рисунок 1). Соответственно, культивируемые клетки были представлены молодой генерацией клеток фибробластического дифферона с высоким пролиферативным потенциалом для формирования адгезий с поверхностью скаффолдов.

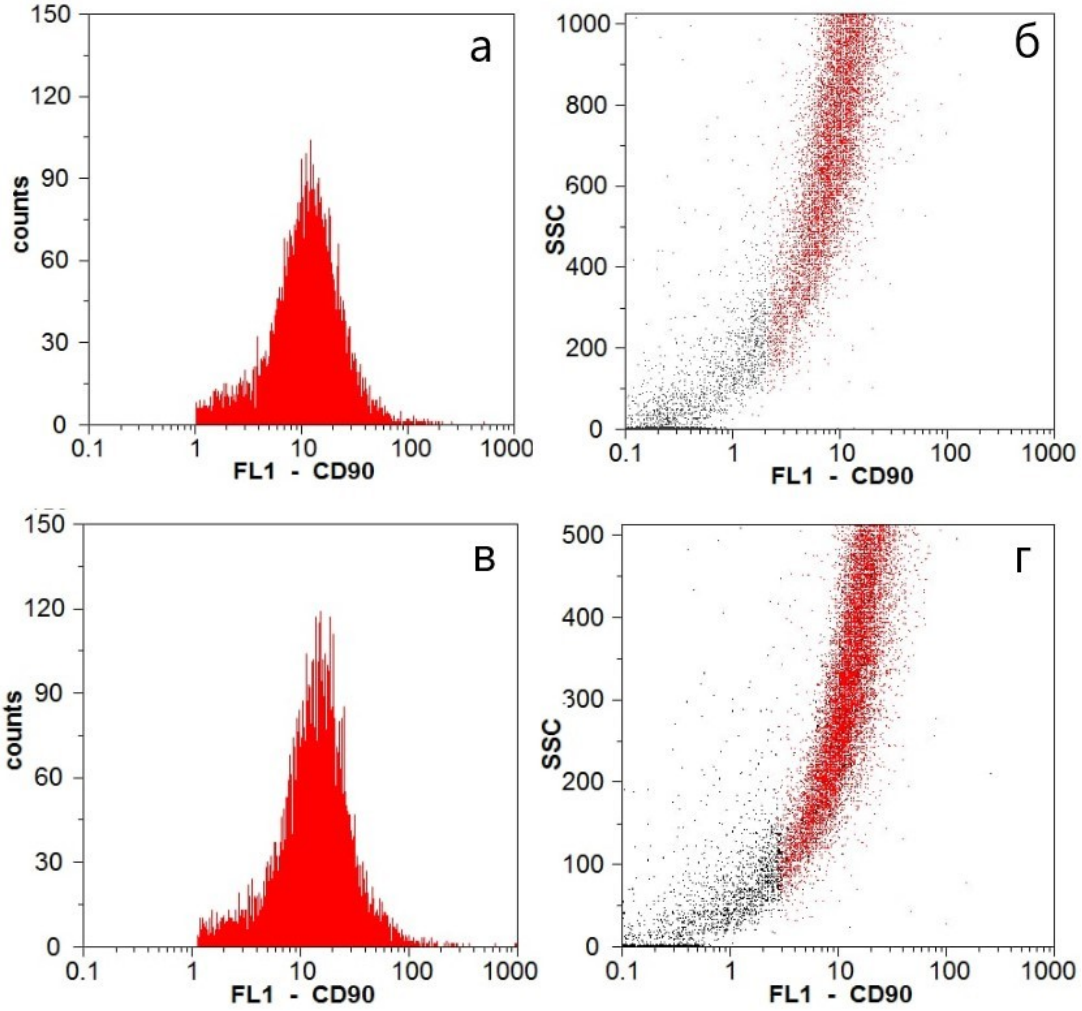
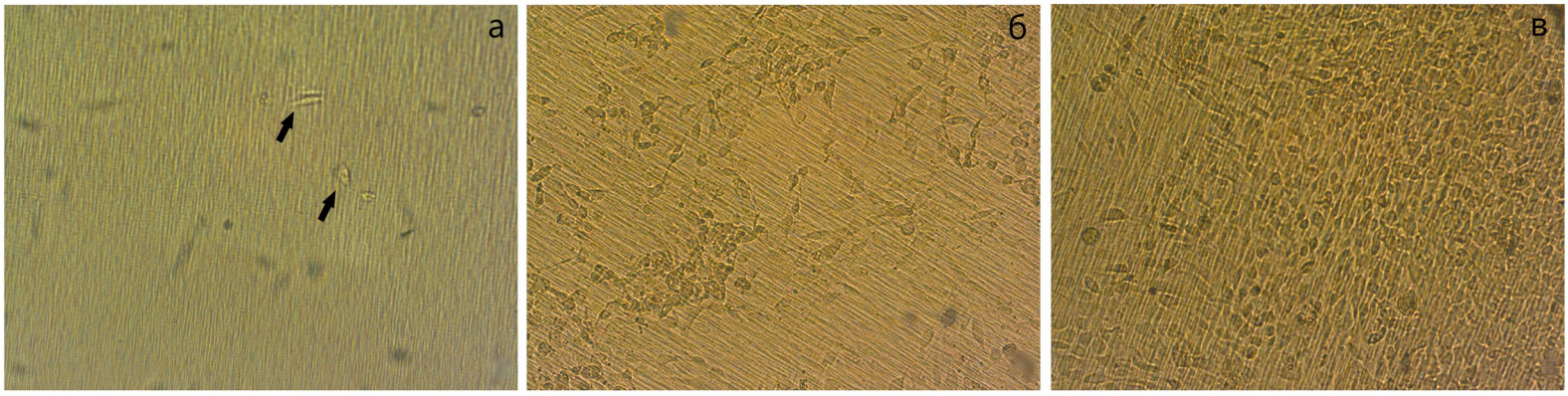



Рисунок 1 - Иммунофенотип линии дермальных фибробластов CD90+-позитивных в экспериментальных группах CulTw (*а, б*) и CulGD (*в,г*):
*а, в* - гистограммы количества CD90-положительных фибробластов; *б, г* - точечный график (красным цветом обозначены CD90-положительные фибробласты среди общего количества клеток)

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.10.1

С помощью проточной цитофлуориметрии выявлены некоторые различия в распределении фибробластов по фазам клеточного цикла в зависимости от химико-физических свойств и пространственной организации структур скаффолда (плетение структур). Так, в частности, в стадии пролиферативного покоя ($G_0$-$G_1$-стадия) количество фибробластов, независимо от вида скаффолда, не выявлено значимых отличий – в группе CulTw этот показатель составил 47%, в группе CulGD - 43%. В то же время количество фибробластов в стадии полиплоидизации (S-стадия), как показатель увеличения количества ДНК, в группе CulTw выше, в сравнении с группой CulGD – 27% и 12%, соответственно. Тогда как в группе CulGD, по сравнению с группой CulTw, выявлено больше количество фибробластов на стадии митотической активности (G2/M) - 45% и 27%, соответственно.

Таким образом, химико-физические свойства и пространственная организация структур скаффолда G-Derm более оптимальны для пролиферативной активности фибробластов в сравнении со скаффолдом Transwell, обеспечивая высокую скорость покрытия поверхности скаффолда (см. рисунок 2). В то же время нужно отметить, что полученные




данные соответствуют двум неделям культивирования фибробластов на поверхности скаффолдов, тогда как более поздние сроки культивирования пока не проанализированы, и, возможно, 3D-культивирование клеток на Transwell в отсроченный период будет более оптимальным в сравнении с 2D-культивированием на G-Derm.

Рисунок 2 - Дермальные фибробласты на скаффолде Transwell:
*а* - на 2, *б* - 13 и *в* - 15 сутки культивирования
DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.10.2

*Примечание: витальный препарат; увеличение ок 10хоб 20*

Анализ клеточного цикла фибробластов во второй экспериментальной группе после УФ-облучения в течение 30 сек выявил увеличение числа клеток в стадии полиплоидизации (S-стадия), в сравнении с контрольной культурой – 11% и 9%, соответственно. Обратная динамика отмечается в стадии пролиферации (G2-M-период) – количество митотически делящихся фибробластов снижается (50% и 32% соответственно). Также после УФ-облучения увеличивается количество клеток в стадии пролиферативного покоя (G0-G1-стадия) – 41% и 7%, соответственно. Незначительное увеличение числа клеток в S-стадии, по всей видимости, является следствием не подготовки клеток к делению, а запуском чекпойнт системы, которая отражает реализацию процессов репарации, а не репликации ДНК [11]. Снижение числа клеток в стадии деления и увеличение в стадии пролиферативного покоя является компенсаторно приспособительной реакцией с остановкой клеточного цикла как защитного механизма от повреждения УФ-лучами [20]. Воздействие внешних факторов на клетку сопровождается активацией различных внутри- и межклеточных, а также системных адаптивных реакций и процессов, которые направлены на устранение или ограничение повреждения и его последствий на структуру и функции клеток.

Выявленные изменения в клеточном цикле фибробластов контрольной группы без облучения и с облучением в течение 30 сек не отразились на общем количестве клеток при анализе через 24 часа. Выбор временной экспозиции в 30 сек был сделан после серии экспериментов с временными экспозициями в 60 и 300 сек. Увеличение времени воздействия вызывало дозозависимое статистически значимое снижение общего количества клеток по сравнению с контрольной группой без облучения - с $2{,}32 \times 10^5$ до $1{,}5 \times 10^5$ ($r = -0{,}89$, $p = 0{,}01$). Увеличение времени облучения фибробластов до 300 секунд приводило к ярко выраженным морфологическим изменениям, которые выражались повышением зернистости цитоплазмы и истончением отростков вплоть до полного их отсутствия (см. рисунок 3).

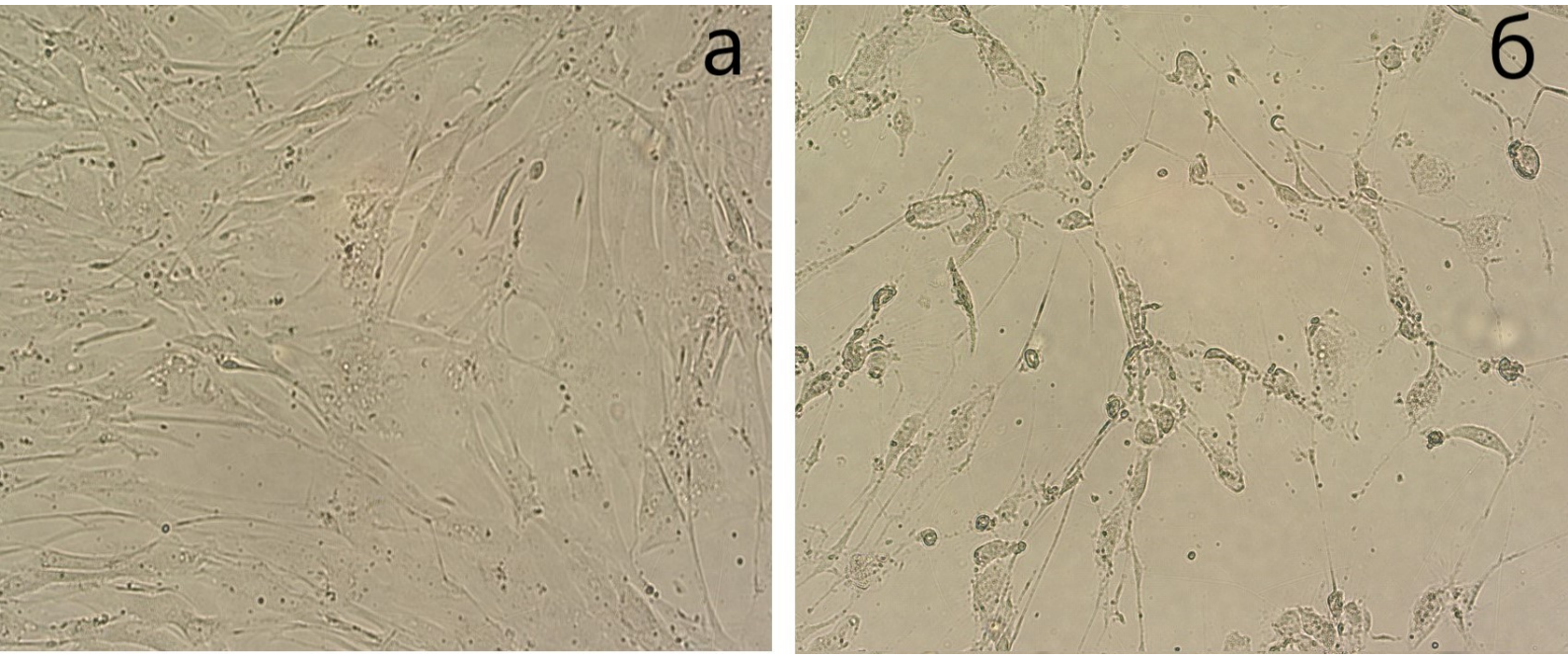



Рисунок 3 - Дермальные фибробласты:
без облучения (*а*) и через 24 часа после облучения в течение 300 секунд (*б*)
DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.123.10.3

*Примечание: витальная культура; световая микроскопия; ув.: ок10 х об20*

Выявленные необратимые изменения в клетках, по всей видимости были вызваны нарушением функций митохондрий, нарушением структуры и функции ядерного аппарата так как в клеточных культурах было отмечено значимое увеличение числа погибших клеток По-видимому, уязвимость фибробластов к данному виду воздействия носит, во-первых, дозозависимый характер, а во-вторых, не исключена отсроченная реактивность клеток после воздействия [13].

**Заключение**

Таким образом, предварительные результаты по анализу клеточного цикла фибробластов в условиях in vitro при воздействии ультрафиолета и культивировании на различных скаффолдах выявили, что для периода двух недель культивирования высокая биосовместимось клеток наблюдается к скаффолду G-DERM в условиях 2D-культивирования. Известно, что пространственное расположение клеток и биосовместимость со скаффолдом по принципу гистоморфологического соответствия, с соблюдением принципов пространственного и функционального подобия, во многом определяется физико-химическим составом и пространственным плетением структур скаффолда [18], [19].

УФ-облучение вызывает остановку клеточного цикла как компенсаторно приспособительный процесс в ответ на действие повреждающего излучения. Временная экспозиция и дозозависимое воздействие УФ-облучения в 30 сек не оказывает выраженного летального воздействия на клеточные культуры.

Полученные нами данные о клеточном цикле фибробластов в условиях in vitro при воздействии ультрафиолета и культивировании на скаффолдах требуют дальнейших исследований путей гибели клеток, идентификации цитотоксичности и анализа сохранения пролиферативной активности у клеток. Остается открытым вопрос о степени повреждения фибробластов и порогового значения влияния анализируемых внешних агрессоров для возврата клеток в исходное состояние с помощью репаративных механизмов стрессоустойчивости.

**Финансирование**

Грант "Полнослойные тканеинженерные конструкции на основе культивируемых клеток кожи человека и их применение в качестве клеточной терапии при лечении повреждений кожи различной этиологии"

**Funding**

"Full-layer tissue engineering structures based on cultured human skin cells and their use as cell therapy in the treatment of skin lesions of various etiologies"

**Конфликт интересов**

Не указан.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Рецензия**

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

**Review**

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

## Список литературы / References

1. Eckert J. Hypergravity affects cell traction forces of fibroblasts. / J. Eckert, J.J.W.A. van Loon, L.M. Eng et al. // Biophysical Journal. – 2021. – №120(5). – p. 773–780.

2. Wang P.W. Comparison of the biological impact of UVA and UVB upon the skin with functional proteomics and immunohistochemistry. / P.W. Wang, Y.C. Hung, T.Y. Lin et al. // Antioxidants. – 2019. – №8(12).

3. Singh S.P. Label-free characterization of ultra violet-radiation-induced changes in skin fibroblasts with Raman spectroscopy and quantitative phase microscopy. / S.P. Singh, S. Kang, J.W. Kang et al. // Scientific Reports. – 2017. – №7(1).

4. González-Gualda E. A guide to assessing cellular senescence in vitro and in vivo. / E. González-Gualda, A.G. Baker, L. Fruk et al. // FEBS Journal . – 2021. – № 288(1). – p. 56–80.

5. Авцын А.П. Ультраструктурные основы патологии клетки / А.П. Авцын, В.А. Шахламов – М.: Медицина, 1979. – 316 с.

6. Сабурина И.Н. 3D культура меланоцитов как тест-система и клеточная модель для изучения патологии меланогенеза / И.Н. Сабурина, Е.В. Джуссоева, А.А. Горкун и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62. – № 4. – с. 265–268.

7. Alencar Silva T. IDR 1018 induces cell proliferation, migration, and reparative gene expression in 2D culture and 3D human skin equivalents. / T. Alencar Silva, A. Zonari, D. Foyt et al. // Journal of tissue engineering and regenerative medicine. – 2019. – Vol. 13. - № 11. – p. 2018–2030.

8. Pacholczyk M. The effect of solar ultraviolet radiation (UVR) on induction of skin cancers. / M. Pacholczyk, J. Czernicki, T. Ferenc // Medycyna pracy. – 2016. – №67(2).

9. Shi P. Therapeutic effects of cell therapy with neonatal human dermal fibroblasts and rabbit dermal fibroblasts on disc degeneration and inflammation. / P. Shi, A. Chee, W. Liu et al. // The Spine Journal. – 2019. – V. 19(1). – p. 171–181.

10. Zhou W. Novel microgel-based scaffolds to study the effect of degradability on human dermal fibroblasts. / W. Zhou, J. Stukel, A. AlNiemi et al. // Biomedical Materials. – 2018. – V. 13(5).

11. Lu M. Human cytomegalovirus UL69 protein induces cells to accumulate in G1 phase of the cell cycle. / M. Lu, T. Shenk // Journal of Virology. – 1999. – V. 73(1). – p. 676–683.

12. Salvant B.S. Cell cycle dysregulation by human cytomegalovirus: influence of the cell cycle phase at the time of infection and effects on cyclin transcription. / B.S. Salvant, E.A. Fortunato, D.H. Spector // Journal of Virology. – 1998. – V. 72(5). – p. 3729–3741.

13. Griffin M.F. Understanding the impact of fibroblast heterogeneity on skin fibrosis. / M.F. Griffin, H.E. desJardins-Park, S. Mascharak et al. // Disease Models & Mechanisms. – 2020. – № 13(6).

14. Неретин Е.Ю. Сравнительный анализ методов преинвазивной диагностики меланомы кожи / Е.Ю. Неретин, С.В. Козлов // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 9(1). – с. 88–91.

15. Biteau B. Maintaining tissue homeostasis: dynamic control of somatic stem cell activity. / B. Biteau, C.E. Hochmuth, H. Jasper // Cell Stem Cell. – 2011. – № 9(5). – p. 402–411.

16. Sriram G. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. / G. Sriram, P.L. Bigliardi, M. Bigliardi-Qi // European Journal of Cell Biology. – 2015. – Vol. 94(11). – p. 483–512.

17. Лупатов А.Ю. Сравнительный анализ экспрессии поверхностных маркеров на фибробластах и фибробластоподобных клетках, выделенных из различных тканей человека. / А.Ю. Лупатов, А.С. Вдовин, И.В. Вахрушев и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2014. – 4. – с. 221–228.

18. Киямова М.Р. Оптимизация протоколов выделения и культивирования клеток различных топографических участков кожи человека. / М.Р. Киямова, Е.И. Антонова, Н.В. Фирсова и др. // Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии : материалы V Всерос. науч.-практич. конф. с международным участием (Ульяновск, 20 мая 2022 г.) ; под ред. Антоновой Е.И. – Чебоксары: Среда, 2022. – с. 107–116.

19. Wang J.H.-C. An introductory review of cell mechanobiology. / J.H.-C. Wang, B.P. Thampatty // Biomechanics and Modeling in Mechanobiology. – 2006. – Vol. 5(1). – p. 1–16.

20. Frey F. More than just a barrier: using physical models to couple membrane shape to cell function. / F. Frey, T. Idema // Soft Matter. – 2021. – Vol. 17(13). – p. 3533–3549.

21. Кузнецов С.Л. Современные представления о структуре и функциях эпидермиса. / С.Л. Кузнецов, В.Л. Горячкина, Д.А. Цомартова и др. // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2013. – № 2. – с. 26–32.

## Список литературы на английском языке / References in English

1. Eckert J. Hypergravity affects cell traction forces of fibroblasts. / J. Eckert, J.J.W.A. van Loon, L.M. Eng et al. // Biophysical Journal. – 2021. – №120(5). – p. 773–780.

2. Wang P.W. Comparison of the biological impact of UVA and UVB upon the skin with functional proteomics and immunohistochemistry. / P.W. Wang, Y.C. Hung, T.Y. Lin et al. // Antioxidants. – 2019. – №8(12).

3. Singh S.P. Label-free characterization of ultra violet-radiation-induced changes in skin fibroblasts with Raman spectroscopy and quantitative phase microscopy. / S.P. Singh, S. Kang, J.W. Kang et al. // Scientific Reports. – 2017. – №7(1).

4. González-Gualda E. A guide to assessing cellular senescence in vitro and in vivo. / E. González-Gualda, A.G. Baker, L. Fruk et al. // FEBS Journal . – 2021. – № 288(1). – p. 56–80.

5. Avcy'n A.P. Ul'trastrukturny'e osnovy' patologii kletki [Ultrastructural foundations of cell pathology] / A.P. Avcy'n, V.A. Shaxlamov – M.: Medicina, 1979. – 316 p. [in Russian]

6. Saburina I.N. 3D kultura melanotsitov kak test-sistema i kletochnaya model dlya izucheniya patologii melanogeneza [3D melanocyte culture as a test system and cell model for studying the pathology of melanogenesis] / I.N. Saburina, Ye.V.

Dzhussoeva, A.A. Gorkun et al. // Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]. – 2018. – Vol. 62. – № 4. – p. 265–268. [in Russian]

7. Alencar Silva T. IDR 1018 induces cell proliferation, migration, and reparative gene expression in 2D culture and 3D human skin equivalents. / T. Alencar Silva, A. Zonari, D. Foyt et al. // Journal of tissue engineering and regenerative medicine. – 2019. – Vol. 13. - № 11. – p. 2018–2030.

8. Pacholczyk M. The effect of solar ultraviolet radiation (UVR) on induction of skin cancers. / M. Pacholczyk, J. Czernicki, T. Ferenc // Medycyna pracy. – 2016. – №67(2).

9. Shi P. Therapeutic effects of cell therapy with neonatal human dermal fibroblasts and rabbit dermal fibroblasts on disc degeneration and inflammation. / P. Shi, A. Chee, W. Liu et al. // The Spine Journal. – 2019. – V. 19(1). – p. 171–181.

10. Zhou W. Novel microgel-based scaffolds to study the effect of degradability on human dermal fibroblasts. / W. Zhou, J. Stukel, A. AlNiemi et al. // Biomedical Materials. – 2018. – V. 13(5).

11. Lu M. Human cytomegalovirus UL69 protein induces cells to accumulate in G1 phase of the cell cycle. / M. Lu, T. Shenk // Journal of Virology. – 1999. – V. 73(1). – p. 676–683.

12. Salvant B.S. Cell cycle dysregulation by human cytomegalovirus: influence of the cell cycle phase at the time of infection and effects on cyclin transcription. / B.S. Salvant, E.A. Fortunato, D.H. Spector // Journal of Virology. – 1998. – V. 72(5). – p. 3729–3741.

13. Griffin M.F. Understanding the impact of fibroblast heterogeneity on skin fibrosis. / M.F. Griffin, H.E. desJardins-Park, S. Mascharak et al. // Disease Models & Mechanisms. – 2020. – № 13(6).

14. Neretin E.Yu. Sravnitelnii analiz metodov preinvazivnoi diagnostiki melanomi kozhi [Comparative analysis of methods of preinvasive diagnosis of skin melanoma] / E.Yu. Neretin, S.V. Kozlov // Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal [Saratov Scientific and Medical Journal]. – 2013. – Vol. 9(1). – p. 88–91. [in Russian]

15. Biteau B. Maintaining tissue homeostasis: dynamic control of somatic stem cell activity. / B. Biteau, C.E. Hochmuth, H. Jasper // Cell Stem Cell. – 2011. – № 9(5). – p. 402–411.

16. Sriram G. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. / G. Sriram, P.L. Bigliardi, M. Bigliardi-Qi // European Journal of Cell Biology. – 2015. – Vol. 94(11). – p. 483–512.

17. Lupatov A.Yu. Sravnitel'ny'j analiz e'kspressii poverxnostny'x markerov na fibroblastax i fibroblastopodobny'x kletkax, vy'delenny'x iz razlichny'x tkanej cheloveka [Comparative analysis of the expression of surface markers on fibroblasts and fibroblast-like cells isolated from various human tissues]. / A.Yu. Lupatov, A.S. Vdovin, I.V. Vaxrushev et al. // Kletochny'e texnologii v biologii i medicine [Cell technologies in biology and medicine]. – 2014. – 4. – p. 221–228. [in Russian]

18. Kiyamova M.R. Optimizaciya protokolov vy'deleniya i kul'tivirovaniya kletok razlichny'x topograficheskix uchastkov kozhi cheloveka [Optimization of protocols for isolation and cultivation of cells of various topographic areas of human skin]. / M.R. Kiyamova, E.I. Antonova, N.V. Firsova et al. // Fundamental and applied research in priority areas of bioecology and biotechnology : materials of the V All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation (Ulyanovsk, May 20, 2022); edited by Antonovoj E.I. – Cheboksary': Sreda, 2022. – p. 107–116. [in Russian]

19. Wang J.H.-C. An introductory review of cell mechanobiology. / J.H.-C. Wang, B.P. Thampatty // Biomechanics and Modeling in Mechanobiology. – 2006. – Vol. 5(1). – p. 1–16.

20. Frey F. More than just a barrier: using physical models to couple membrane shape to cell function. / F. Frey, T. Idema // Soft Matter. – 2021. – Vol. 17(13). – p. 3533–3549.

21. Kuzneczov S.L. Sovremenny'e predstavleniya o strukture i funkciyax e'pidermisa [Modern ideas about the structure and functions of the epidermis]. / S.L. Kuzneczov, V.L. Goryachkina, D.A. Czomartova et al. // Rossijskij zhurnal kozhny'x i venericheskix boleznej [Russian Journal of Skin and Venereal Diseases]. – 2013. – № 2. – p. 26–32. [in Russian]