

В.Г. НИКОНОВА, О.А. КУЧУР, В.В. КРИШТОП,
И.В. ФАТЕЕВ, Т.А. РУМЯНЦЕВА

ВЛИЯНИЕ БИОКОМПЗИТНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ГЕЛЯ И VEGF НА МОРФОЛОГИЮ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ КУЛЬТУРЫ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Ключевые слова: культура фибробластов, неорганические гели, рубец, морфология, МТТ-тест, клеточный цикл.

Биокомпозитные материалы на основе неорганических гелей обладают мезопористой структурой, потенциально пригодной для регуляции и дифференцировки клеток с учетом ключевой роли, которую играет VEGF в процессах ремоделирования соединительной ткани.

Цель исследования – оценить влияние биокомпозитного материала на основе неорганического геля алюминия и VEGF и его компонентов на морфологию и выживаемость культуры дермальных фибробластов человека. **Материалы и методы.** В исследовании использовались дермальные фибробласты человека, которые культивировались на неорганическом геле алюминия, в растворе VEGF и их комбинации, после чего проводился МТТ-тест. Морфологию фибробластов оценивали в нативных культурах. Во всех случаях концентрация VEGF составляла 10 нг/мл. Распределение клеток по фазам клеточного цикла изучали на проточном цитофлуориметре. **Результаты.** Были получены данные о незначительном воздействии неорганического геля на морфологию и выживаемость фиброцитов. Однако при культивировании на биокомпозитном материале эффекты превосходили по выраженности изменения, вызванные добавлением VEGF, и заключались в росте морфологических эквивалентов синтетической активности и росте выживаемости фибробластов, что, вероятно, связано с его мезопористой структурой, увеличивающей нахождение клетки в G1.

Введение. Традиционно биокомпозитные материалы рассматриваются в контексте их выдающихся прочностных характеристик [2]. Вместе с тем создание биосовместимых материалов ставит своей целью не только восстановление опорной и механической функции органов человека, костных и хрящевых структур опорно-двигательного аппарата, зубов и т.д. Не менее важной является задача рекапитуляции микроокружения для воссоздания ниш стволовых клеток, нейрональных [6], мезенхимальных, эпидермальных, регуляторки, дифференцировки и миграции клеток [11]. Последнее востребовано для создания раневых покрытий в ситуациях, характеризующихся нарушением пролиферации, и дифференцировки кератиноцитов и клеток фибробластического ряда [11].

Целью исследования была оценка влияния биокомпозитного материала на основе неорганического геля алюминия и VEGF и его компонентов на морфологию и выживаемость культуры дермальных фибробластов человека.

Материалы и методы. После разморозки клетки культивировались во флаконах на среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки в CO₂-инкубаторе в общепринятых условиях: атмосфера 5% CO₂, температура 37°C, влажность 5% (Sanyo, Япония). Затем после формирования клеточного монослоя во флаконе клетки были рассеяны в 96-луночный планшет в концентрации 2000 клеток на лунку в объеме 100 мкл среды DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки. После 24-часовой экспозиции с исследуемыми аналогами проводили

МТТ-тест, основанный на колориметрической оценке метаболической активности клеток, а именно способности НАДФ-Н-зависимых оксидоредуктазных клеточных ферментов живых клеток восстанавливать краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий бромид до нерастворимого формазана с пурпурной окраской. Жизнеспособность клеток измеряли с помощью стандартного метилтиазолтетразолиевого (МТТ) теста [12], основанного на способности НАДФ-Н-зависимых оксидоредуктазных клеточных ферментов живых клеток восстанавливать краситель 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий бромид до нерастворимого формазана с пурпурной окраской. Это позволяет колориметрически оценить метаболическую активность клеток. Алюмина была предоставлена лабораторией SCAMT в ходе выполнения исследования в рамках проекта № 19-19-00433 Российского научного фонда [8]. Для оценки цитотоксичности алюминия, а также выживаемости и роста клеток использовали прозрачные 96-луночные планшеты *dat-bottom*, на которые наносили алюмину, раствор VEGF в фосфатном буфере и алюмину. Во всех случаях концентрация VEGF составляла 10 нг/мл. Также был проведен эксперимент только с добавлением фактора роста VEGF без алюминия. Дополнительные пустые лунки были зарезервированы для контрольного теста. Клетки дермальных линий фибробластов человека были взяты каждая в количестве 5×10^3 и посеяны в 96-луночные планшеты с образцами, а также в контрольный. Клетки инкубировали в течение 72 ч при 37°C и 5% CO₂. После инкубации проводили МТТ-тест, добавляя 0,2 мл МТТ (5 мг/мл) в течение 2 ч, затем выпавший в осадок нерастворимый формазан растворяли в 0,2 мл ДМСО и измеряли оптическое поглощение при 570 нм с помощью планшетного ридера *Infinite F50* (Tecan). Анализировалось не менее 3000 клеток. Все эксперименты были выполнены трижды. Морфологию дермальных фибробластов оценивали в нативных культурах. Определяли: площадь цитоплазмы клеток (мкм²), площадь ядра (мкм²), длину периметра ядра (мкм), длину отростков (мкм), определяли с помощью программы *ImageJ* (National Institutes of Health, США) [13].

Ядерно-цитоплазматическое соотношение рассчитывали по формуле

$$\text{ЯЦО} = S_{\text{я}} / S_{\text{ц}}, \quad (1)$$

где $S_{\text{я}}$ – площадь ядра клетки; $S_{\text{ц}}$ – площадь цитоплазмы.

Отношение длины периметра кариолеммы к площади ядра (ППЯ, мкм⁻¹) рассчитывали по формуле

$$\text{ППЯ} = P_{\text{я}} / S_{\text{я}}, \quad (2)$$

где $P_{\text{я}}$ – длина периметра ядра; $S_{\text{я}}$ – площадь ядра клетки.

Рассчитывали медиану, первый и третий квартиль, различия изучаемых групп определяли при помощи критерия Данна (Dunn) для нескольких групп. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Распределение клеток по фазам клеточного цикла проводили с использованием метода проточной цитометрии. Фибробласты снимали с лунок планшета трипсином, промывали, центрифугировали, инкубировали 30 мин с РНКазой А (100 мкг/мл) при 37°C и затем 20 мин с пропидий йодидом (50 мкг/мл) при 4°C. Образцы анализировали на проточном цитофлуориметре *CytoFlex* в комплектации В2-R2-V0. Фазу клеточного цикла определяли по анализу количества ДНК в клетке. В фазе G1/G0 количество ДНК строго соответствует 2с. В ходе S-фазы количество ДНК постепенно увеличивается и достигает 4с к G2-фазе. После разделения дочерних клеток в ходе митоза количество ДНК возвращается к 2с. Для анализа количества ДНК методом проточной цитофлуориметрии проводились выделение из клеток ядер и их окрашивание с помощью красителя пропидий йодида, интенсивность флуоресценции которого была количественным показателем содержания ДНК.

Метод использовался для оценки вклада мезопористой структуры алюминия на митотическую активность фибробластов, поэтому в тесте принимали участие фибробласты, снятые с алюминия, и фибробласты, выращенные в контрольных условиях. Анализировалось не менее 3000 клеток.

Результаты исследования и их обсуждение. Культивирование фибробластов в среде, содержащей VEGF, приводит к достоверному уменьшению длины их отростков (рис. 1) по отношению к длине отростков фибробластов, культивируемых на алюминии ($p > 0,05$), что указывает на противоположный характер влияния этих факторов. Также при культивировании в среде, содержащей VEGF в культуре фибробластов, были достоверно выше медианные значения площади цитоплазмы клетки ($p > 0,05$), чем в контроле. Другие исследуемые показатели: ядерно-цитоплазматическое отношение и отношение периметра к площади ядра фибробластов как при культивировании на алюминии, так и при добавлении в среду указанных концентраций VEGF достоверных отличий от показателей контрольной группы не имели.

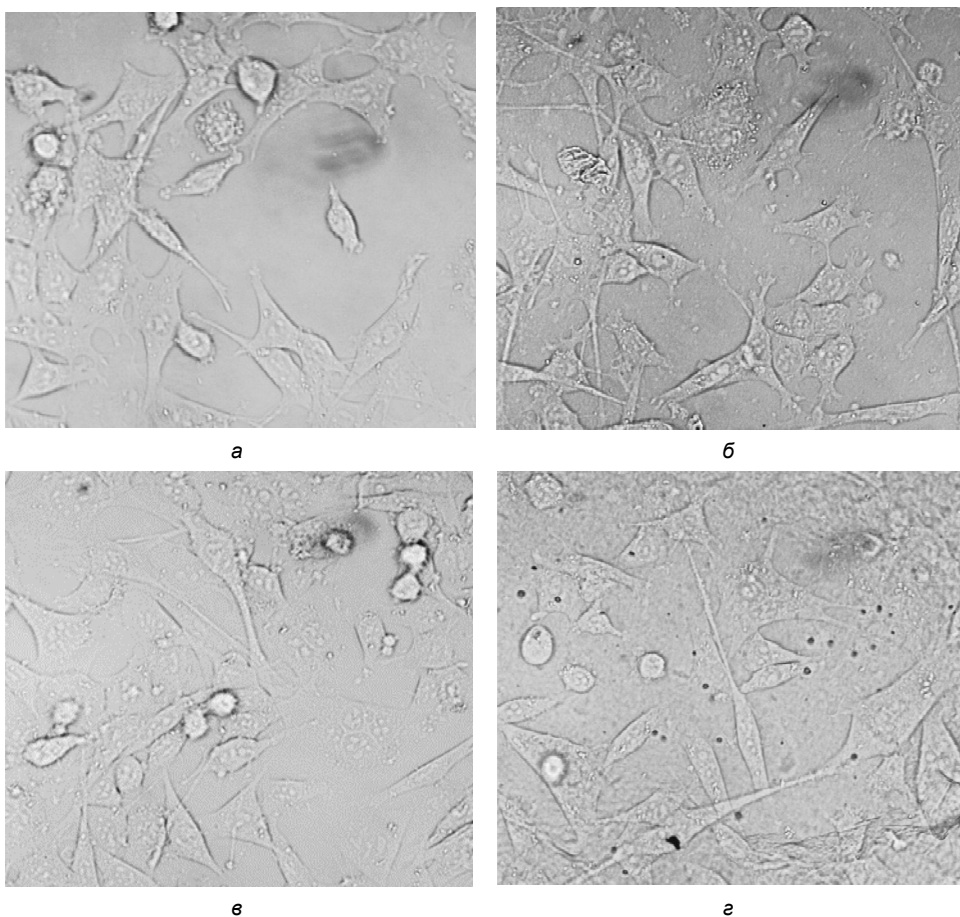


Рис 1. Культура дермальных фибробластов человека. Об. 40:
а – контроль; б – фибробласты, культивируемые на пленке алюминия;
в – фибробласты, культивируемые с добавлением в среду VEGF; г – фибробласты, культивируемые на композитном материале – неорганическом геле алюминия с VEGF

Вместе с тем использование совместного влияния вышеуказанных факторов в виде культивирования на композитном материале, содержащем VEGF, приводило к формированию ряда достоверных отличий (табл. 1). Площадь цитоплазмы фибробластов в указанной серии снижалась по отношению к показателям серии с использованием VEGF ($p < 0,05$), возрастало ядерно-цитоплазматическое соотношение ($p < 0,001$ в обоих случаях), а отношение длины среза кариолеммы к площади ядра было достоверно выше, чем в серии AL ($p < 0,05$), что может указывать на интенсификацию транспортных процессов между цитоплазмой и ядром.

Таблица 1

Результаты морфометрии и МТТ-теста (Me, интерквартильный размах, Q1-Q3)

Группа	Площадь цитоплазмы, мкм ²	Длина отростков, мкм	ЯЦО	Периметр/площадь ядра, мкм ⁻¹	Выживаемость фибробластов, %
Контроль	42,5 (31,4–58,3)	12,5 (6,7–17,9)	0,19 (0,19–0,23)	0,069 (0,066–0,081)	100
Фибробласты, культивируемые на пленке алюминия	46 (37,1–56,0)	14,5 (10,0–20,0)	0,14 (0,14–0,16)	0,063 (0,057–0,090)	111
Фибробласты, культивируемые с добавлением в среду VEGF	44,7* (33,7–55,9)	11,7 (8,3–20,9)	0,15 (0,15–0,19)	0,074 (0,066–0,080)	140
Фибробласты, культивируемые на композитном материале – неорганическом геле алюминия с VEGF	36,2 (31,2–56,6)	12,5 (8,7–18,2)	0,22* (0,22–0,34)	0,079 (0,070–0,088)	151

Примечание. * – отличия с показателями контрольной серии достоверны ($p < 0,05$).

Для серии AL+VEGF характерны также пролиферация и наибольшая выживаемость клеток, последняя составляет 151% относительно показателей контроля и превосходит как показатели группы VEGF (140%), так и выживаемость клеток на алюминии (111%).

Для того, чтобы оценить вклад мезопористой структуры алюминия в потенцирование эффектов VEGF, выражающихся в вышеуказанных морфологических и функциональных перестройках фибробластов дермы человека, было исследовано распределение фаз клеточного цикла. Результаты нашего исследования показывают, что культивирование дермальных фибробластов человека на алюминии приводит к удлинению фазы G1 на 10%, в то время как другие фазы не изменились (табл. 2).

Таблица 2

Распределение фаз клеточного цикла, %

Группа	Фазы клеточного цикла			
	SubG1	G1	S	G2/M
Культивирование дермальных фибробластов человека на алюминии	14,97±0,81	51,31±1,76*	12,92±1,01	11,02±1,12
Контроль	13,86±0,90	41,98±1,13	12,87±0,76	11,08±1,48

Примечание. * – отличия достоверны ($p < 0,05$).

Изменение длины отростков фибробластов является динамическим процессом и определяется рядом факторов, некоторые из них связаны с микрорельефом

подложки [9] и эластичностью экстрацеллюлярного матрикса [5]. Количество отростков у фибробластов может варьироваться от 1-2 до нескольких, их число тесно связано с шириной клетки, при веретеновидной форме клетки тяготеют к 1-2 отросткам, при полигональной – к нескольким. Этот процесс контролируется комплексом внутриклеточных механизмов, включающим в себя секреторную активность, для которой характерна отростчатая форма с большим количеством отростков или миграционная с веретеновидной формой клетки [10]. Культивирование фибробластов в среде, содержащей VEGF *in vitro*, приводит к достоверному уменьшению длины их отростков, что можно рассматривать как один из механизмов стимуляции миграции фибробластов [1] путем формирования соответствующего фенотипа. Мы считаем возможным связать потенцирующий эффект в серии AL+VEGF с мезопористой структурой алюмины, поскольку диффузия внутрь клетки нерастворимого, инертного по отношению к клеткам неорганического геля маловероятна. Об этом также свидетельствует рост продолжительности G1 фазы в этой группе. На G1 фазу приходится наибольшая синтетическая активность фибробластов, связанная с секрецией коллагена и межклеточного вещества [3]. Следует отметить, что морфология фибробластов характеризуется гетерогенностью и связана с их функциональной и пролиферативной активностью, находящейся под контролем гормонов [4] и биоактивных веществ [8]. Как правило, в коже формируются две субпопуляции: одна веретенообразная с двумя отростками и более высоким пролиферативным потенциалом, другая – с более крупной цитоплазмой и большим числом отростков, характеризующаяся большей синтетической активностью. VEGF Эти морфо-функциональные особенности сохраняются даже при культивировании этих клеток *in vitro* [13, 14]. VEGF в нашем исследовании также продемонстрировал двоякий характер своих эффектов: с одной стороны – снижал длину отростков, способствуя миграции, с другой – увеличивал площадь цитоплазмы. Показано, что воздействие эндотелиального фактора роста *in vivo* в структурах соединительной ткани может сопровождаться активацией синтетической активности фибробластов [7], что отражается и на морфологии клеток – увеличением цитоплазмы, включающей в себя гранулярную и агранулярную эндоплазматическую сеть, комплекс Гольджи и другие органеллы, участвующие в синтезе и экскреции компонентов межклеточного матрикса. Вышеописанные изменения клеток зафиксированы в нашем исследовании. Интересно, что модификация алюмины VEGF приводит к потенцированию отдельно наблюдающихся эффектов, что сопровождается значительным ростом клеточной плотности, которая в 1,5 раза превосходит показатели контроля и на 11% – показатели группы с внесением раствора VEGF.

Выводы. Таким образом, выявленное нами сочетание морфологических изменений фибробластов, демонстрирующих как воздействие фактора роста, так и потенцирующее влияние алюмины, делает, на наш взгляд, оптимальным дальнейшее исследование биологических эффектов композитных соединений на основе неорганических гелей и ростовых факторов в качестве компонента раневых покрытий и терапии атрофических рубцов.

Литература

1. Влияние фактора роста эндотелия сосудов и эритропоэтина на функциональную активность фибробластов и мультипотентных мезенхимных стромальных клеток / Н.А. Бондаренко, Ю.В. Никонорова, М.А. Суровцева и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. № 10. С. 505–508.

2. Дасковский М.И., Дориомедов М.С., Севастьянов Д.В., Скрипачев С.Ю. Полимерные биокомпозиаты – перспективы применения (обзор) // *Авиационные материалы и технологии*. 2017. № 3(48). С. 74–80. DOI: 10.18577/2071-9140-2017-0-3-74-80.
3. Зорина А., Зорин В., Черкасов В. Дermalные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи // *Эстетическая медицина*. 2012. № 1. С. 15–31.
4. Криштоп, В.В., Румянцева Т.А., Никонорова В.Г. Типологические и половые особенности морфологии щитовидной железы при длительной субтотальной гипоксии головного мозга у крыс // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2019. Т. 9, № 4. С. 30–38.
5. Avery D., Govindaraju P., Jacob M., Todd L. et al. Extracellular matrix directs phenotypic heterogeneity of activated fibroblasts. *Matrix Biol.*, 2018, no. 67, pp. 90–106. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.12.003.
6. Buzanska L., Zychowicz M., Kinsner-Ovaskainen A. Bioengineering of the Human Neural Stem Cell Niche: A Regulatory Environment for Cell Fate and Potential Target for Neurotoxicity. *Results Probl Cell Differ.*, 2018, vol. 66, pp. 207–230. DOI: 10.1007/978-3-319-93485-3_9.
7. Guppell K.M., Hoffman L.M. VEGF induces stress fiber formation in fibroblasts isolated from dystrophic muscle. *J Cell Commun Signal.*, 2015, vol. 9, no. 4, pp. 353–360. DOI: 10.1007/s12079-015-0300-z.
8. Iglın V.A., Sokolovskaya O., Morozova S.M., Kuchur O.A. et al. Effect of Sol-Gel Alumina Bio-composite on the Viability and Morphology of Dermal Human Fibroblast Cells. *ACS Biomaterial Science and Engineering*. 2020, vol. 6, no. 8, pp. 4397–4400. DOI: 10.1021/acsbomaterials.0c00721.
9. Kharitonova M.A., Vasiliev J.M. Length control is determined by the pattern of cytoskeleton. *J Cell Sci.*, 2004, vol. 117, no. 10, pp. 1955–1960. DOI: 10.1242/jcs.01054.
10. Levina E.M., Kharitonova M.A., Rovensky Y.A., Vasiliev J.M. Cytoskeletal control of fibroblast length: experiments with linear strips of substrate. *J Cell Sci.*, 2001, vol. 114, no. 23, pp. 4335–4341. DOI: 10.1242/jcs.114.23.4335.
11. Markeson D., Pleat J.M., Sharpe J.R., Harris A.L. et al. Scarring, stem cells, scaffolds and skin repair. *J Tissue Eng Regen Med.*, 2015, vol. 9, no. 6, pp. 649–668. DOI: 10.1002/term.1841.
12. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J Immunol. Methods*, 1983, vol. 63, no. 1-2, pp. 55–63. DOI: doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4.
13. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nature Methods*, 2012, no. 9, p. 671. DOI: org/10.1038/nmeth.2089.
14. Sriram G., Bigliardi P.L., Bigliardi-Qi M. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. *Eur J Cell Biol.*, 2015, vol. 94, no. 11, pp. 483–512. DOI: 10.1016/j.ejcb.2015.08.001.

НИКОНорова Варвара Геннадьевна – лаборант-исследователь, Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Минобороны России, Россия, Санкт-Петербург (bgnikon@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9453-4262>).

Кучур Олег Александрович – инженер, факультет биотехнологий, Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург (kuchur@scamt-itmo.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3700-4131>).

Криштоп Владимир Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Минобороны России, Россия, Санкт-Петербург (chrishtop@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9267-5800>).

Фатеев Иван Владимирович – доктор медицинских наук, Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Минобороны России, Россия, Санкт-Петербург (gniiivm_15@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4014-3973>).

Румянцева Татьяна Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии человека, Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль (rum-yar@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8035-4065>).

Varvara G. NIKONOROVA, Oleg A. KUCHUR, Vladimir V. CHRISHTOP,
Ivan V. FATEEV, Tatiana A. RUMYANTSEVA

EFFECT OF BIOCOMPOSITE MATERIAL OF INORGANIC GEL AND THE VEGF ON MORPHOLOGY AND SURVIVAL OF HUMAN DERMAL FIBROBLAST CULTURE

Key words: fibroblast culture, inorganic gels, scar, morphology, MTT assay, cell cycle.

Biocomposite materials based on inorganic gels have a mesoporous structure which is potentially suitable for cell regulation and differentiation, taking into account the key role played by the VEGF in the processes of connective tissue remodeling.

The aim of the study was to evaluate the effect of biocomposite material based on inorganic alumina gel and VEGF and its components on the morphology and survival of human dermal fibroblast culture. **Materials and methods.** The study used human dermal fibroblasts that were cultured on an inorganic gel, alumina, in a VEGF solution and their combination, after which an MTT assay was performed. The morphology of fibroblasts was evaluated in native cultures. In all cases, the VEGF concentration was 10 ng/ml. The distribution of cells by cell cycle phases was studied on a flow cytometer. **Results.** Data on an insignificant effect of the inorganic gel on the morphology and survival of fibrocytes were obtained. However, when cultured on biocomposite material, the effects were more pronounced than the changes caused by VEGF addition, and consisted in an increase in morphological equivalents of synthetic activity and an increase in fibroblast survival, which is probably due to its mesoporous structure, which increases the presence of a cell in G1.

References

1. Bondarenko N.A., Nikonorova Yu.V., Surovtseva M.A. et al. Vliyanie faktora rosta endoteliya sosudov i eritropoetina na funktsional'nuyu aktivnost' fibroblastov i mul'tipotentnykh mezenkhimnykh stromal'nykh kletok [Effect of vascular endothelial growth factor and erythropoietin on the functional activity of fibroblasts and multipotent mesenchymal stromal cells]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*, 2015, no. 10, pp. 505–508.
2. Daskovskiy M.I., Doriomedov M.S., Sevast'yanov D.V., Skripachev S.Yu. Polimernye biokompozity – perspektivy primeneniya (obzor) [Polymeric biocomposites – the prospects for use (review)]. *Aviatsionnye materialy i tekhnologii*, 2017, no 3 (48), pp. 74–80. DOI: 10.18577/2071-9140-2017-0-3-74-80.
3. Zorina A., Zorin V., Cherkasov V. Dermal'nye fibroblasty: raznoobrazie fenotipov i fiziolo-gicheskikh funktsiy, rol' v starenii kozhi [Dermal fibroblasts: diversity of phenotypes and physiological functions, role in skin aging]. *Esteticheskaya meditsina*, 2012, no. 1, pp. 15–31.
4. Chrishtop, V.V., Rummyantseva T.A., Nikonorova V.G. Tipologicheskie i polovye osobennosti morfologii shchitovidnoy zhelezy pri dlitel'noy subtotal'noy gipoksii golovnogo mozga u kryis [Typological and sex-specific morphology of the thyroid gland during prolonged subtotal cerebral hypoxia in rats]. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*, 2019, vol. 9, no. 4, pp. 30–38.
5. Avery D., Govindaraju P., Jacob M., Todd L., Monslow J., Puré E. Extracellular matrix directs phenotypic heterogeneity of activated fibroblasts. *Matrix Biol.*, 2018, no. 67, pp. 90–106. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.12.003.
6. Buzanska L., Zychowicz M., Kinsner-Ovaskainen A. Bioengineering of the Human Neural Stem Cell Niche: A Regulatory Environment for Cell Fate and Potential Target for Neurotoxicity. *Results Probl Cell Differ.*, 2018, vol. 66, pp. 207–230. DOI: 10.1007/978-3-319-93485-3_9.
7. Gutpell K.M., Hoffman L.M. VEGF induces stress fiber formation in fibroblasts isolated from dystrophic muscle. *J Cell Commun Signal.*, 2015, vol. 9, no. 4, pp. 353–360. DOI: 10.1007/s12079-015-0300-z.
8. Iglin V.A., Sokolovskaya O., Morozova S.M. et al. Effect of Sol-Gel Alumina Biocomposite on the Viability and Morphology of Dermal Human Fibroblast Cells. *ACS Biomaterial Science and Engineering*, 2020, vol. 6, no. 8, pp. 4397–4400. DOI: 10.1021/acsbomaterials.0c00721.
9. Kharitonova M.A., Vasiliev J.M. Length control is determined by the pattern of cytoskeleton. *J Cell Sci.*, 2004, vol. 117, no. 10, pp. 1955–1960. DOI: 10.1242/jcs.01054.
10. Levina E.M., Kharitonova M.A., Rovensky Y.A., Vasiliev J.M. Cytoskeletal control of fibroblast length: experiments with linear strips of substrate. *J Cell Sci.*, 2001, vol. 114, no. 23, pp. 4335–4341. DOI: 10.1242/jcs.114.23.4335.
11. Markeson D., Pleat J.M., Sharpe J.R. et al. Scarring, stem cells, scaffolds and skin repair. *J Tissue Eng Regen Med.*, 2015, vol. 9, no. 6, pp. 649–668. DOI: 10.1002/term.1841.
12. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. Immunol. Methods*, 1983, vol. 63, no. 1-2, pp. 55–63. DOI: doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4.

13. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nature Methods*, 2012, no. 9, p. 671. DOI: [org/10.1038/nmeth.2089](https://doi.org/10.1038/nmeth.2089).

14. Sriram G., Bigliardi P.L., Bigliardi-Qi M. Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro. *Eur J Cell Biol.*, 2015, vol. 94, no. 11, pp. 483–512. DOI: [10.1016/j.ejcb.2015.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2015.08.001).

VARVARA G. NIKONOROVA – Research Lab Technician, State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Russian Defence Ministry, Russia, St. Petersburg (bgnikon@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9453-4262>).

OLEG A. KUCHUR – Engineer, Department of Biotechnology, ITMO University, Russia, St. Petersburg (kuchur@scamt-itmo.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3700-4131>).

VLADIMIR V. CHRISHTOP – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Russian Defence Ministry, Russia, St. Petersburg (chrishtop@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9267-5800>).

IVAN V. FATEEV – Doctor of Medical Sciences, State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Russian Defence Ministry, Russia, St. Petersburg (gniiivm_15@mil.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4014-3973>).

TATIANA A. RUMYANTSEVA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Human Anatomy Department, Yaroslavl State Medical University, Russia, Yaroslavl (rum-yar@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8035-4065>).

Формат цитирования: *Никонорова В.Г., Кучур О.А., Криштон В.В., Фатеев И.В., Румянцова Т.А.* Влияние биокомпозитного материала из неорганического геля и VEGF на морфологию и выживаемость культуры дермальных фибробластов человека [Электронный ресурс] // *Acta medica Eurasica*. – 2022. – № 4. – С. 80–87. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2022/4/9>. DOI: [10.47026/2413-4864-2022-4-80-87](https://doi.org/10.47026/2413-4864-2022-4-80-87).