

## Структурная организация и состав внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при различном уровне содержания кислорода *in vitro*

Д.К. Матвеева<sup>1</sup>, Е.Р. Андреева<sup>1</sup>, Н.Н. Новиков<sup>2</sup>, В.И. Пустовой<sup>2</sup>, Л.Б. Буравкова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Институт общей физики имени А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**Введение.** Внеклеточный матрикс (ВКМ) – ключевой компонент тканевого микроокружения мезенхимальных стромальных клеток (МСК), образующий сложную трехмерную сеть макромолекул с разными физическими и биохимическими свойствами. Пониженный уровень  $O_2$  – один из важнейших физических факторов ниши стволовых и прогениторных клеток. Поскольку ВКМ является динамичной структурой, его свойства могут изменяться в зависимости от концентрации  $O_2$ .

**Цель исследования** – охарактеризовать особенности упаковки и содержание коллагеновых и неколлагеновых белков ВКМ МСК в условиях постоянного культивирования при 20% и 5%  $O_2$ .

**Материалы и методы.** МСК из жировой ткани человека постоянно культивировали при 20% или 5%  $O_2$ . Для стимуляции продукции компонентов ВКМ в культуральную среду добавляли 2-фосфо-L-аскорбат натрия. Коллагеновые и неколлагеновые белки выявляли с помощью гистологических красителей, а характер упаковки оценивали по данным сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии.

**Результаты.** При 20%  $O_2$  молекулы ВКМ МСК образовывали плотную структуру без четкого разделения на отдельные фибриллы. При 5%  $O_2$  ВКМ представлял густую сеть из тонких пересекающихся фибрилл. Содержание общего белка было достоверно больше в МСК при 5%  $O_2$ . Продукция коллагеновых и неколлагеновых белков была сходной при различном уровне  $O_2$ . Аскорбат натрия стимулировал продукцию коллагеновых белков, при 5%  $O_2$  МСК были более чувствительны к этому стимулу.

**Выводы.** МСК, постоянно культивируемые при 5% или 20%  $O_2$ , продуцируют хорошо развитый ВКМ, сходный по содержанию коллагеновых и неколлагеновых компонентов, но отличающийся по структуре. Это может быть востребовано как для нужд регенеративной медицины с точки зрения использования ВКМ в качестве материала для скаффолдов, так и для изучения взаимодействия МСК с ВКМ как компонентом их микроокружения.

**Ключевые слова:** внеклеточный матрикс, 2-фосфо-L-аскорбат натрия, коллагеновые и неколлагеновые белки, Sirius Red, Fast Green

**Для корреспонденции:** Елена Ромуальдовна Андреева. E-mail: andreeva1564@gmail.com

**Для цитирования:** Матвеева Д.К., Андреева Е.Р., Новиков Н.Н., Пустовой В.И., Буравкова Л.Б. Структурная организация и состав внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при различном уровне содержания кислорода *in vitro*. Клини. эксп. морфология. 2020;9(1):57–63. DOI:10.31088/CEM2020.9.1.57-63

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке программы президиума РАН № 19.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 20.12.2019. Получена после рецензирования 04.02.2020. Принята в печать 11.02.2020.

## Structural organization and composition of extracellular matrix of multipotent mesenchymal stromal cells under different oxygen levels *in vitro*

D.K. Matveeva<sup>1</sup>, E.R. Andreeva<sup>1</sup>, N.N. Novikov<sup>2</sup>, V.I. Pustovoy<sup>2</sup>, L.B. Buravkova<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Prokhorov General Physics Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Introduction.** Extracellular matrix (ECM) forming a complex three-dimensional macromolecule network with different physical and biochemical properties is a key component of the local microenvironment of mesenchymal stromal cell (MSC). Low  $O_2$  level is considered as one of the most crucial physical factors

in the niche of stem and progenitor cells As far as ECM is a dynamic structure, its properties can be varied depending on  $O_2$  level.

*The aim* of the study was to characterize the peculiarities of ECM organization and the content of collagenous and non-collagenous proteins of MSCs permanently cultured at 20% and 5%  $O_2$ .

*Materials and methods.* Human adipose-derived MSCs were permanently expanded at 20% or 5%  $O_2$ . To stimulate a production of ECM, sodium L-ascorbate was added to the medium. Collagenous and noncollagenous components were analyzed by conventional histology, packaging of ECM was examined with scanning electron and atomic force microscopy.

*Results.* Under 20%  $O_2$ , ECM of MSCs formed a dense structure without clearly distinguishing between individual fibrils, while at 5%  $O_2$  ECM was consisted of a network of thin intersecting fibrils. The total protein content was significantly higher in MSCs under 5%  $O_2$ . The production of collagenous and noncollagenous proteins was similar under different  $O_2$  levels. Sodium ascorbate stimulated the production of collagen proteins; at 5%  $O_2$ , MSCs were more sensitive to this stimulus.

*Conclusions.* In vitro expanded MSCs produced a well-developed ECM at 5% as well as at 20%  $O_2$ . The content of collagenous and noncollagenous components was similar, but the structure was different in both groups. These data may be useful for regenerative medicine in terms of scaffold coatings, and for studies of the interaction of MSCs with their microenvironment.

**Keywords:** extracellular matrix, L-ascorbic acid 2-phosphate, collagenous and non-collagenous proteins, Sirius Red, Fast Green

**Corresponding author:** Elena R. Andreeva. E-mail: andreeva1564@gmail.com

**For citation:** Matveeva D.K., Andreeva E.R., Novikov N.N., Pustovoy V.I., Buravkova L.B. Structural organization and composition of extracellular matrix of multipotent mesenchymal stromal cells under different oxygen levels *in vitro*. Clin. exp. morphology. 2020;9(1):57–63. (In Russ.). DOI:10.31088/CEM2020.9.1.57-63.

**Funding.** The research was supported in part with Program № 19 of the Presidium of the Russian Academy of Science.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 20.12.2019. **Received in revised form** 04.02.2020. **Accepted** 11.02.2020.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) способны к самообновлению, мультилинейной дифференцировке и секреции растворимых медиаторов, а также продуцируют хорошо развитый внеклеточный матрикс (ВКМ). ВКМ образует трехмерную молекулярную сеть, которая формирует механический каркас тканей, и регулирует клеточные функции, такие как пролиферация, миграция, дифференцировка, жизнеспособность и морфогенез [1]. В соответствии с классическими представлениями все компоненты ВКМ можно разделить на фибриллярные, которые образуют коллагеновые, ретикулярные и эластические волокна, и аморфные (неколлагеновые), сформированные гликопротеинами и протеогликанами [2]. Кроме того, возможно разделение ВКМ на два основных компартмента по структуре и по составу: перичеллюлярный и интерстициальный [3].

МСК активно продуцируют молекулы матрикса, а также ремоделируют его в зависимости от изменяющихся условий микроокружения [4]. Концентрация  $O_2$  является критическим фактором ниши МСК. С одной стороны, МСК локализуются в областях со сниженным содержанием  $O_2$ , при «физиологической» гипоксии [5]. С другой стороны, они могут подвергаться коротким острым гипоксическим эффектам при повреждении тканей [6, 7]. Установлено, что резкое снижение содержания кислорода в микроокружении

клеток в патологических процессах ведет к увеличению продукции компонентов ВКМ и жесткости структуры ВКМ [8, 9]. Тем не менее в научной литературе практически не освещены особенности ВКМ, продуцируемого МСК при «физиологической» гипоксии, его ремоделирования и способности к модуляции клеточных ответов, что определяет актуальность исследований в этом направлении.

Целью нашей работы было охарактеризовать особенности упаковки и содержание коллагеновых и неколлагеновых белков ВКМ МСК в условиях постоянного культивирования при стандартном атмосферном (20%) и близком к тканевому (5%) уровне  $O_2$ .

## Методы

*Культивирование клеток.* В работе использовали МСК из стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека из коллекции лаборатории клеточной физиологии ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Клетки постоянно культивировали при стандартных лабораторных условиях при 20%  $O_2$  в  $CO_2$ -инкубаторе (5%  $CO_2$ , 95% воздуха) или в условиях «физиологической» гипоксии при 5%  $O_2$  в мультигазовом инкубаторе (5%  $CO_2$ , 5%  $O_2$ , 90%  $N_2$ ) (оба Sanyo, Япония) в полной среде  $\alpha$ -MEM (Gibco, Великобритания) с 10% фетальной телячьей сыворотки. Плотность посадки составляла 3–3,5 тыс. клеток на 1  $cm^2$ . В экспериментах использовали клет-

ки 3–5 пассажей. Для анализа продукции ВКМ МСК высевали на культуральный пластик или стекла в плотности 7,5 тыс. клеток на 1 см<sup>2</sup>. Для стимуляции продукции компонентов матрикса добавляли 2-фосфо-L-аскорбат натрия в концентрации 50 мкг/мл (Fluka, Германия).

**Выявление компонентов ВКМ с помощью гистологических красителей.** МСК культивировали в 24-луночных планшетах (Corning, США) при 20% и 5% O<sub>2</sub>. После достижения монослоя к клеткам добавляли среду, содержащую 2-фосфо-L-аскорбат натрия в концентрации 50 мкг/мл (Fluka, Германия) для стимуляции продукции компонентов матрикса. Для выявления коллагеновых и неколлагеновых белков ВКМ использовали 0,1% Sirius Red F3BA или 0,1% Fast Green FCF (оба Sigma, США) в водном растворе насыщенной пикриновой кислоты. Относительное содержание белков ВКМ определяли с помощью полуколичественного метода, основанного на растворении и последующем колориметрическом определении относительного содержания красителей, связавшихся с компонентами матрикса при гистологическом окрашивании [10, 11]. Краситель, связавшийся с ВКМ, растворяли в смеси 0,1% NaOH и абсолютного метанола (1:1), и полученный элюат анализировали с помощью спектрофотометра (BioRad, США) при 550 и 620 нм. Для оценки общего количества белка клетки окрашивали 0,5% Crystal violet (Sigma, США) в абсолютном метаноле и экстрагировали 96% этанолом. Интенсивность окраски оценивали спектрофотометрически при 550 нм.

**Микроскопия.** Для световой микроскопии использовали микроскоп Nikon Eclipse TiU (Nikon, Япония).

Образцы для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) готовили, как описано в [12] и изучали в сканирующем электронном микроскопе JSM-6380LA (JEOL, Япония). Микроскопия выполнена в общефакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ им. М.В. Ломоносова под руководством Г.Н. Давидовича.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) использована для исследования топографии ВКМ на высушенных клеточных препаратах, приготовленных для СЭМ. Изображения поверхности были получены на микроскопе NT-MDT Solver P47 (НТ-МДТ «Спектрум Инструментс», Россия) с помощью кантилевера NSG01 TiN с резонансной частотой сканирования от 100 до 200 кГц. Обработка изображения АСМ выполнялась с помощью программы Image Analysis.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 7.0. В качестве характеристик полученных выборок использовали среднее и стандартное отклонение. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни для малых выборок при выбранном уровне значимости  $p < 0,05$ . Эксперименты

выполняли на МСК из трех разных образцов ткани в трех технических повторах.

## Результаты и обсуждение

**Продукция коллагеновых и неколлагеновых белков МСК при различном уровне O<sub>2</sub>.** Для идентификации компонентов ВКМ использовали Sirius Red F3BA и Fast Green FCF (рис. 1 А, В). Оба красителя связывались с МСК и внеклеточными структурами, причем интенсивность окраски клеток была выше, чем ВКМ. Можно предположить, что целевые молекулы для Sirius Red (коллаген типа I и III) и Fast Green (белки протеогликанов и гликопротеинов) локализируются в основном перичеллюлярно.

Для полуколичественной оценки окрашенные препараты экстрагировали и спектрофотометрически определяли содержание красителей. Для нормирования на общий белок МСК окрашивали Crystal violet (рис. 1 С).

При расчете на единицу площади, занятой МСК, относительное содержание коллагеновых и неколлагеновых белков достоверно не отличалось при 20% и 5% O<sub>2</sub> (рис. 1 D, E). Тем не менее относительное содержание общего белка МСК оказалось достоверно выше при 5% O<sub>2</sub> (рис. 1 F). После пересчета на общий белок была выявлена тенденция к снижению продукции коллагеновых и неколлагеновых белков при 5% O<sub>2</sub> по сравнению с 20% O<sub>2</sub> (рис. 1 G, H).

В настоящее время изучение характера продукции и ремоделирования ВКМ стромальных клеток в условиях депривации O<sub>2</sub> связано в основном с короткими гипоксическими воздействиями, которые сопровождают патологические процессы. Адаптация к таким условиям рассматривается как ответ на стресс и сопровождается увеличением продукции ВКМ, необходимого для экспансии и миграции клеток [9]. При гипоксическом стрессе *in vivo* обнаружено увеличение экспрессии проколлагена I, II и IV типа в паренхиме легких крысы [13], а также продукции фибронектина в капиллярах мозга [14]. *In vitro* после короткой экспозиции перитонеальных фибробластов крысы в гипоксии на 30% увеличивалась продукция коллагена I типа [15]. Фибробласты роговицы, экспонированные при 0,5–2% O<sub>2</sub>, синтезировали достоверно больше ВКМ, чем при стандартном атмосферном уровне O<sub>2</sub> [16]. В нашем исследовании, напротив, выявлена тенденция к снижению содержания ВКМ, что может указывать на различия в механизмах ответа МСК на короткие и постоянные экспозиции в гипоксических условиях.

Для усиления продукции ВКМ в экспериментах *in vitro* широко применяют аскорбат натрия, который стимулирует синтез коллагена [11, 17]. Этот эффект объясняется тем, что аскорбат натрия способствует гидроксированию пролина, что является наиболее важным для эффективной сборки коллагена [18]. В наших экспериментах добавление аскорбата привело к достоверному увеличению относительного содержания

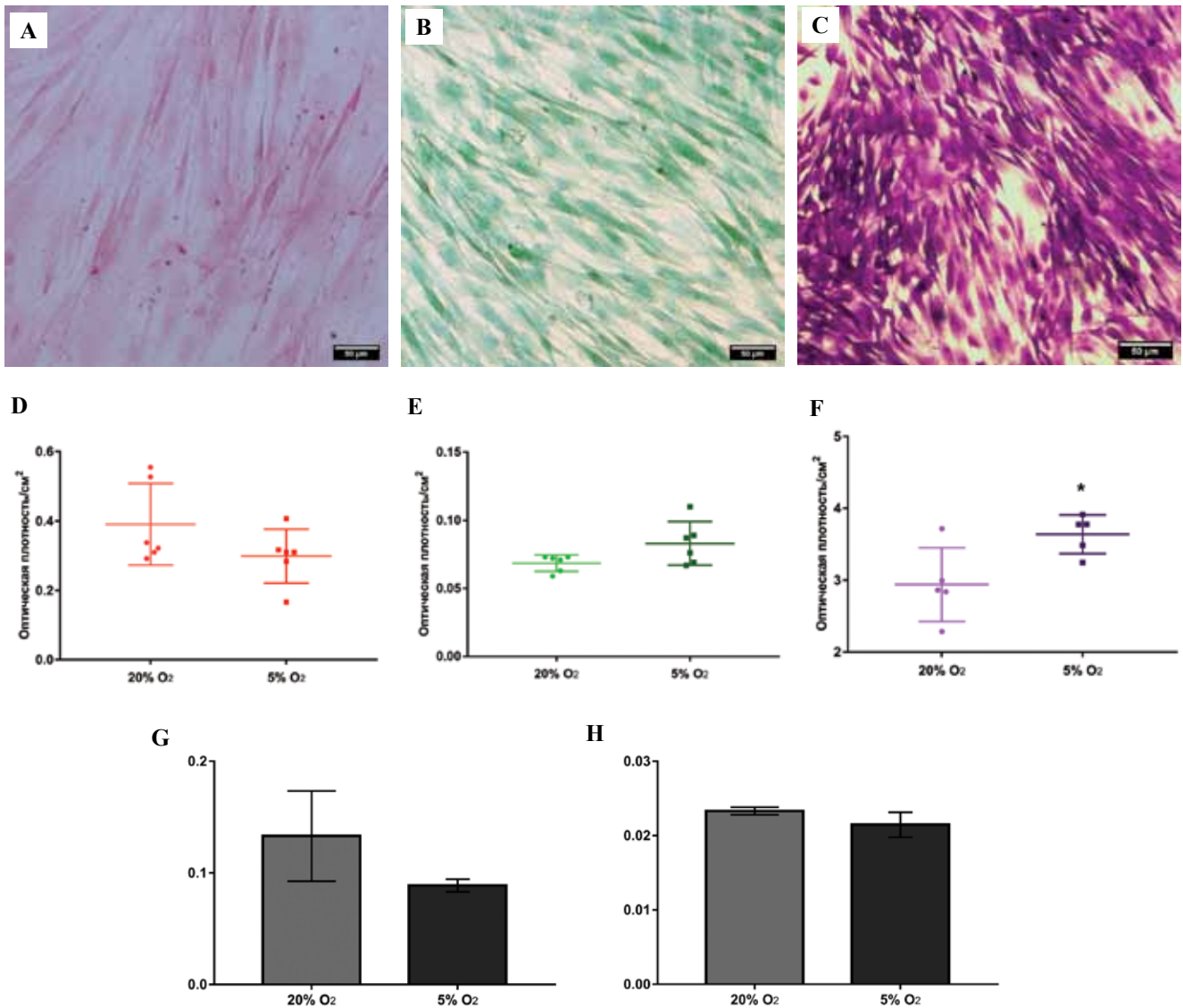


Рис. 1. Характеристика компонентов ВКМ культивируемых МСК.

А–С – гистологическая окраска: (А) коллагеновых белков, Sirius Red F3BA,  $\times 10$ , (В) неколлагеновых белков, Fast Green FCF,  $\times 10$ , (С) общего белка, Crystal violet,  $\times 10$ . Светлое поле. Nikon Eclipse TiU. D–F – полуколичественное колориметрическое определение содержания (D) коллагеновых белков, 1550 нм; (E) неколлагеновых белков, 1620 нм; (F) общего белка, 1550 нм. G–H – нормализация содержания белков матрикса на общий белок (G – значения Sirius Red/Crystal violet, H – Fast Green/Crystal violet, усл. ед.)

\*  $p=0,03$

Fig. 1. The characteristics of the ECM components of MSCs in vitro.

A–C – histological staining: (A) collagenous protein, Sirius Red F3BA,  $\times 10$ , (B) noncollagenous protein, Fast Green FCF,  $\times 10$ , (C) total protein, Crystal violet,  $\times 10$ . Bright field. Nikon Eclipse TiU. D–F – semi-quantitative evaluation of collagenous (D) 1550 nm, noncollagenous proteins (E), 1620 nm, and total protein (F), 1550 nm. G–H – estimated amount of ECM proteins after normalization with total protein (G – Sirius Red/Crystal violet, H – Fast Green/Crystal violet, arb. un.)

\*  $p=0,03$

коллагеновых белков, причем при 5% O<sub>2</sub> данный эффект был более выраженным по сравнению с применением 20% O<sub>2</sub> (табл. 1). Эти данные позволяют предположить, что МСК при постоянном культивировании при 5% O<sub>2</sub> более чувствительны к действию аскорбата.

*Морфологические особенности упаковки ВКМ МСК при различном уровне O<sub>2</sub>.* С помощью СЭМ была изучена морфология монослоев МСК, постоянно куль-

тивируемых при 20% или 5% O<sub>2</sub> (рис. 2 А, В). При 20% O<sub>2</sub> МСК были крупнее и более распластанными в сравнении с МСК при 5% O<sub>2</sub>. Такое изменение размеров коррелирует с тем фактом, что МСК при гипоксии обладают более высокой пролиферативной активностью и выраженным фибробластоподобным фенотипом [19].

Мы обнаружили морфологические различия в структуре ВКМ, занимающего пространство под

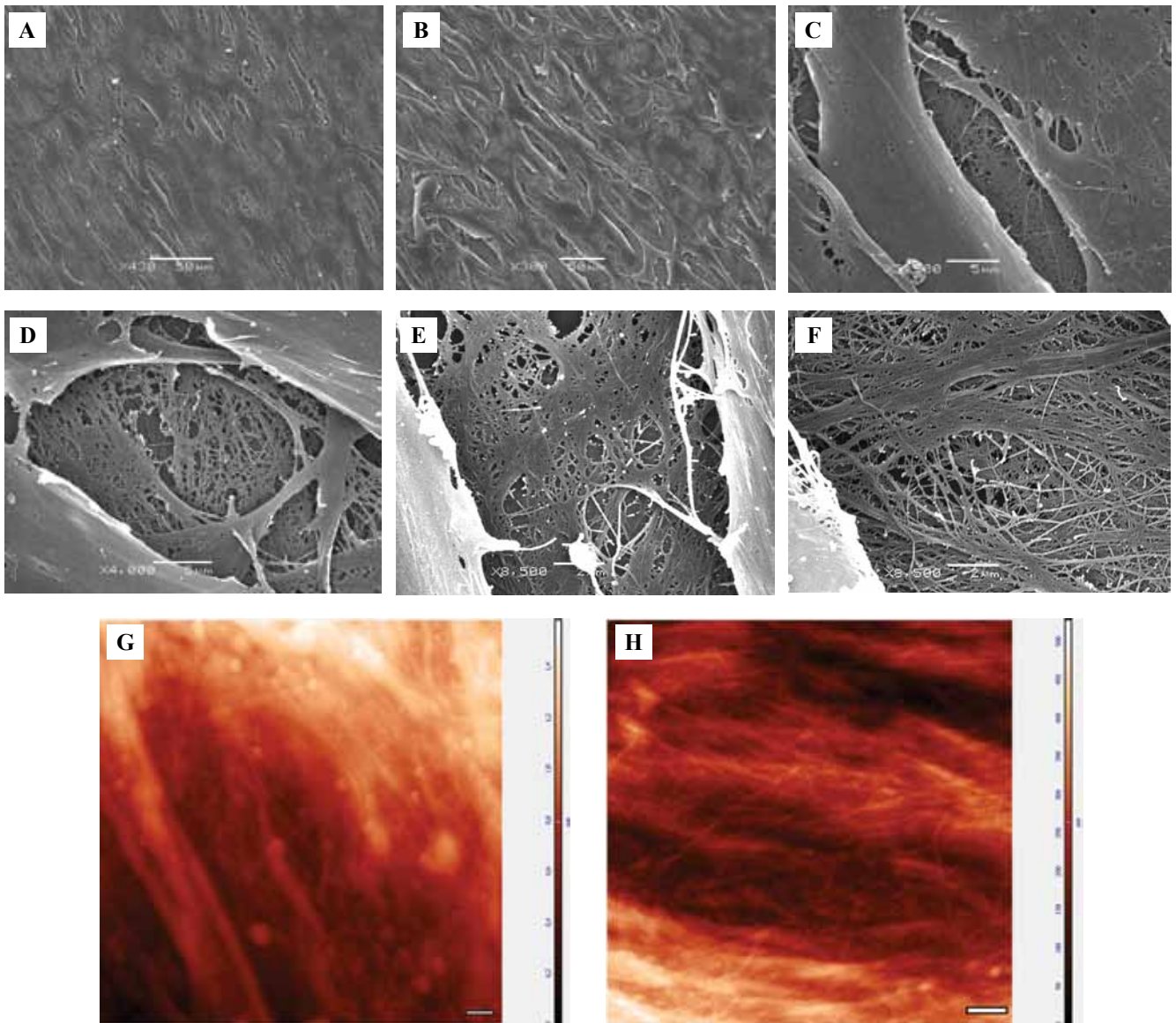


Рис. 2. Морфология МСК и ВКМ, продуцируемого МСК при 20% O<sub>2</sub> (А, С, Е, G) или 5% O<sub>2</sub> (В, D, F, H). Сканирующая электронная микроскопия (А–F). Атомно-силовая микроскопия (G, H). Масштабный отрезок – 1 мкм

Fig. 2. Morphology of MSCs and ECM produced by MSCs under 20% O<sub>2</sub> (A, C, E, G) or 5% O<sub>2</sub> (B, D, F, H). Scanning electron microscope (A–F). Atomic force microscopy (G, H). Scale bar – 1 μm

Таблица 1 / Table 1

**Влияние 2-фосфо-L-аскорбата натрия на продукцию коллагеновых белков МСК при различном уровне O<sub>2</sub>**  
 [Данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение, усл. ед.]

**The effect of sodium 2-phospho-L-ascorbate on collagenous protein level of MSCs at different O<sub>2</sub> levels**  
 [Data are presented in the form mean value ± standard deviation, arb. un.]

Уровень O <sub>2</sub> , % O <sub>2</sub> level, %	Экспериментальная группа Experimental group	Содержание коллагеновых белков Collagen protein	Кратность отличий Difference multiplicity
20%	– 2-фосфо-L-аскорбат	0,39±0,08	1,4*
	+2-фосфо-L-аскорбат	0,55±0,12	
5%	– 2-фосфо-L-аскорбат	0,32±0,01	1,85**
	+ 2-фосфо-L-аскорбат	0,6±0,09	

\* Достоверные различия при добавлении аскорбата Na при 20% O<sub>2</sub>, p=0,03

\*\* Достоверные различия при добавлении аскорбата Na при 5% O<sub>2</sub>, p=0,006

\* Significant difference with sodium ascorbate at 20% O<sub>2</sub>, p = 0.03

\*\* Significant difference with sodium ascorbate at 5% O<sub>2</sub>, p = 0.006

монослоем клеток и в промежутках между ними (рис. 2 С–F). При 20% O<sub>2</sub> молекулы ВКМ, как правило, образовывали плотную структуру с промежутками из пересекающихся волокон ВКМ (рис. 2 С, Е). ВКМ при 5% O<sub>2</sub>, напротив, формировал густую сеть из тонких пересекающихся фибрилл (рис. 2 D, F) с единичными областями плотных структур. На изображениях, полученных с помощью АСМ, было хорошо видно, что тонкие волокна ВКМ локализованы как на поверхности, так и в пространствах между МСК, которые были менее упорядоченные и упакованные при 5% O<sub>2</sub> (рис. 2 G, H). Анализ топографии показал, что ВКМ (темные волокна на рис. 2 G, H) расположен под монослоем МСК (светлые отростки клеток на рис. 2 G, H). Различия в морфологии ВКМ, обнаруженные в настоящей работе, могут быть результатом изменения профиля протеаз, участвующих в ремоделировании ВКМ и являющихся гипоксиязависимыми [20, 21].

### Заключение

Поскольку тотальное содержание коллагеновых и неколлагеновых белков не отличалось при 20% и 5% O<sub>2</sub>, можно предположить, что выявленные различия в структуре могут определяться O<sub>2</sub>-зависимым ремоделированием ВКМ за счет протеаз и изменением качественного состава ВКМ.

Полученные результаты могут быть востребованы как для анализа механизмов функционирования МСК в локальных тканевых депо, так и разработки протоколов получения скаффолдов на основе нативных ВКМ для нужд регенеративной медицины.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.Р. Андреева, Д.К. Матвеева.  
Сбор и обработка материалов – Д.К. Матвеева, Н.Н. Новиков, В.И. Пустовой.  
Написание текста – Д.К. Матвеева, Е.Р. Андреева.  
Редактирование – Е.Р. Андреева, Л.В. Буравкова.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.R. Andreeva, D.K. Matveeva.  
Collected the data and performed the analysis – D.K. Matveeva, N.N. Novikov, V.I. Pustovoy.  
Wrote the paper – D.K. Matveeva, E.R. Andreeva.  
Edited the manuscript – E.R. Andreeva, L.V. Buravkova.

### Литература/References

1. *Clause KC, Barker TH.* Extracellular matrix signaling in morphogenesis and repair. *Curr Opin Biotechnol.* 2013;24(5):830–3. DOI:10.1016/j.copbio.2013.04.011.
2. *Быков В.Л.* Цитология и общая гистология. Санкт-Петербург: Сотис, 2002. 254 с.  
*Vykov VL.* Cytology and basic histology. St. Petersburg: Sotis, 2002. 254 p. (In Russ.).
3. *Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK.* Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;97:4–27. DOI: 10.1016/j.addr.2015.11.001.
4. *Riis S, Stensballe A, Emmersen J, Pennisi CP, Birkelund S, Zachar V et al.* Mass spectrometry analysis of adipose-derived stem cells reveals a significant effect of hypoxia on pathways regulating extracellular matrix. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):52. DOI: 10.1186/s13287-016-0310-7.
5. *Ivanovic Z.* Hypoxia or in situ normoxia: The stem cell paradigm. *J Cell Physiol.* 2009;219(2):271–5. DOI: 10.1002/jcp.21690.
6. *Myllyharju J, Schipani E.* Extracellular matrix genes as hypoxia-inducible targets. *Cell Tissue Res.* 2009;339(1):19–29. DOI: 10.1007/s00441-009-0841-7.
7. *Gilkes DM, Semenza GL, Wirtz D.* Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(6):430–9. DOI: 10.1038/nrc3726.
8. *Jean C, Gravelle P, Fournie J-J, Laurent G.* Influence of stress on extracellular matrix and integrin biology. *Oncogene.* 2011;30(24):2697–706. DOI: 10.1038/ncr.2011.27.
9. *Kalluri R.* The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(9):582–98. DOI: 10.1038/nrc.2016.73.
10. *Keira SM, Ferreira LM, Gagnani A, Duarte IS, Barbosa J.* Experimental model for collagen estimation in cell culture. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2004;19(1):17–22. DOI: 10.1590/s0102-86502004000700005.
11. *Trackman PC, Saxena D, Bais MV.* TGF-β1 and CCN2-stimulated Sirius Red assay for collagen accumulation in cultured cells. *Methods Mol Biol.* 2017;1489:481–5. DOI: 10.1007/978-1-4939-6430-7\_39.
12. *Матвеева Д.К., Андреева Е.Р., Буравкова Л.В.* Выбор оптимального протокола получения децеллюляризованного внеклеточного матрикса мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани человека. *Вестник Московского университета.* 2019;74(4):294–300.  
*Matveeva DK, Andreeva ER, Buravkova LB.* Selection of the optimal protocol for preparation of decellularized extracellular matrix of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2019;74(4):294–300 (In Russ.).
13. *Berg JT, Breen EC, Fu Z, Mathieu-Costello O, West JB.* Alveolar hypoxia increases gene expression of extracellular matrix proteins and platelet-derived growth factor-B in lung parenchyma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158(6):1920–8. DOI: 10.1164/ajrccm.158.6.9804076.
14. *Milner R, Hung S, Erokwu B, Dore-Duffy P, LaManna JC, del Zoppo GJ.* Increased expression of fibronectin and the alpha 5 beta 1 integrin in angiogenic cerebral blood vessels of mice subject to hypobaric hypoxia. *Mol Cell Neurosci.* 2008;38(1):43–52. DOI: 10.1016/j.mcn.2008.01.013.
15. *Saed GM, Diamond MP.* Hypoxia-induced irreversible up-regulation of type I collagen and transforming growth factor-beta1 in human peritoneal fibroblasts. *Fertil Steril.* 2002;78(1):144–7. DOI: 10.1016/s0015-0282(02)03146-1.
16. *Kumar P, Satyam A, Cigognini D, Pandit A, Zeugolis DI.* Low oxygen tension and macromolecular crowding accelerate extracellular matrix deposition in human corneal fibroblast culture. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(1):6–18. DOI: 10.1002/term.2283.
17. *Choi KM, Seo YK, Yoon HH, Song KY, Kwon SY, Lee HS et al.* Effect of ascorbic acid on bone marrow-derived mesenchymal

- stem cell proliferation and differentiation. *J Biosci Bioeng.* 2008;105(6):586–94. DOI: 10.1263/jbb.105.586.
18. Davidson JM, LuValle PA, Zoia O, Quaglino D, Giro M. Ascorbate differentially regulates elastin and collagen biosynthesis in vascular smooth muscle cells and skin fibroblasts by pretranslational mechanisms. *J Biol Chem.* 1997;272(1):345–52. DOI: 10.1074/jbc.272.1.345.
  19. Буравкова Л.Б., Гринаковская О.С., Андреева Е.Р., Жамбалова А.П., Козионова М.П. Характеристика мезенхимальных стромальных клеток из липоаспирата человека, культивируемых при пониженном содержании кислорода. *Цитология.* 2009;51(1):5–11.
  20. Buravkova LB, Grinakovskaya OS, Andreeva ER, Zhambalova AP, Kozionova MP. Characteristics of human lipoaspirate-isolated mesenchymal stromal cells cultivated under lower oxygen tension. *Cell and Tissue Biology.* 2009;3(1):23–28 (In Russ.).
  21. Choi JY, Jang YS, Min SY, Song JY. Overexpression of MMP-9 and HIF-1 $\alpha$  in breast cancer cells under hypoxic conditions. *J Breast Cancer.* 2011;14(2):88–95. DOI: 10.4048/jbc.2011.14.2.88.
  22. Gilkes DM, Semenza GL, Wirtz D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(6):430–9. DOI:10.1038/nrc37266.

### Информация об авторах

Диана Константиновна Матвеева – аспирант лаборатории клеточной физиологии ИМБП РАН.

Елена Ромуальдовна Андреева – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии ИМБП РАН.

Николай Николаевич Новиков – инженер центра лазерной технологии и материаловедения ИОФ РАН им. А.М. Прохорова.

Владимир Иванович Пустовой – кандидат физико-математических наук, руководитель центра лазерной технологии и материаловедения ИОФ РАН им. А.М. Прохорова.

Людмила Борисовна Буравкова – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточной физиологии ИМБП РАН; профессор кафедры экологической и экстремальной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова.

### Author information

Diana K. Matveeva – Post-graduate Student, Laboratory of Cell Physiology, Institute of Biomedical Problems RAS.  
<https://orcid.org/0000-0002-1386-2836>

Elena R. Andreeva – Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Cell Physiology, Institute of Biomedical Problems RAS.  
<https://orcid.org/0000-0002-1000-5804>

Nickolay N. Novikov – Engineer, Center of Laser Technology and Materials Science, Prokhorov General Physics Institute RAS.  
<https://orcid.org/0000-0001-7250-2446>

Vladimir I. Pustovoy – Cand. Sci. (Phys.-Math.), Head of the Center of Laser Technology and Materials Science, Prokhorov General Physics Institute RAS.  
<https://orcid.org/0000-0001-6383-3243>

Ludmila B. Buravkova – Corresponding Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Cell Physiology, Institute of Biomedical Problems RAS; Professor, Department of Ecological and Extreme Medicine, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-6994-557X>