

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ВЛИЯНИЕ МАТРИКЛЕТОЧНОГО БЕЛКА ТЕНАСЦИНА-С НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФИБРОБЛАСТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ *IN VITRO*

К.И. Мелкоян, А.С. Асякина*, Т.В. Русинова, Е.А. Солоп, А.А. Фоменко, А.А. Козлова, Д.О. Соловий

Кубанский государственный медицинский университет,
350063, Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4; *e-mail: cnil@ksma.ru

Заживление ран представляет собой сложный многоступенчатый процесс, включающий последовательные фазы воспаления, пролиферации и ремоделирования. Одним из белков, активно вовлекаемых в процессы репарации, является матриклеточный белок тенасцин-С (TNC), который синтезируется в ответ на повреждение тканей и активно участвует в регуляции клеточной адгезии, миграции, пролиферации и синтезе белков внеклеточного матрикса. В то же время на ранних стадиях заживления ран значительное влияние оказывает интерлейкин-1 альфа (IL1 α), выступающий в роли алармина, инициирующего воспалительную активацию фибробластов. Целью данной работы было определить оптимальную концентрацию TNC, способствующую стимуляции миграционной и синтетической активности фибробластов кожи человека *in vitro*, в том числе в условиях предварительной воспалительной активации с помощью IL1 α . Для этого проводили сравнительный анализ миграции и пролиферации клеток, а также измеряли уровень синтеза коллагена I типа с использованием культуры фибробластов человека DF-1 при инкубации с IL1 α (50 нг/мл) в течение 24 часов и последующего добавления рекомбинантного TNC в конечных концентрациях: 0.05 мкг/мл, 0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл. TNC оказывал дозозависимое влияние на фибробласты: в концентрации 0.2 мкг/мл он стимулировал миграцию и пролиферацию клеток, что сопровождалось статистически значимым увеличением синтеза коллагена I типа по сравнению с контролем, однако этот уровень был ниже, чем при концентрации TNC 1 мкг/мл, где наблюдали выраженное увеличение продукции коллагена. В условиях предварительной стимуляции IL1 α влияние TNC усиливалось, особенно при концентрациях 0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл, что свидетельствует о потенциале TNC как регулятора клеточной активности в воспалительном микроокружении. Использование более высоких доз не приводило к дополнительному усилению эффекта. Полученные данные могут быть использованы при разработке биоматериалов и терапевтических агентов, направленных на ускорение заживления кожных ран за счёт модуляции клеточной активности, что особенно актуально при лечении хронических или длительно заживающих ран.

Ключевые слова: тенасцин-С; фибробласты; заживление ран; матриклеточные белки, коллагеногенез; алармин

DOI: 10.18097/BMCRM00286

ВВЕДЕНИЕ

Репаративные процессы в коже представляют собой сложные, многоступенчатые события, в которых ключевую роль занимают фибробласты, обеспечивающие восстановление внеклеточного матрикса (ВКМ), синтез коллагена, а также регулирующие клеточную миграцию, пролиферацию и ремоделирование тканей. Эффективность репарации во многом зависит от регуляции активности фибробластов различными биологически активными молекулами, включая компоненты ВКМ и провоспалительные сигналы [1]. Ключевыми составляющими репарационной активности фибробластов являются их миграционные, пролиферативные и секреторно-синтетические свойства. На ранних этапах репаративного процесса определяющее значение имеет миграционная способность клеток, обеспечивающая их направленное перемещение в очаг повреждения под действием хемотаксических стимулов. На последующей фазе репаративного ответа ключевую роль играет пролиферация фибробластов, приводящая к увеличению клеточной популяции в зоне повреждения [2]. Существенную роль играет и синтетическая активность фибробластов, реализующаяся в продукции компонентов ВКМ, включая коллагены I и III типов, фибронектин и протеогликаны,

формирующие структурный каркас в зоне повреждения [3]. Эффективность регенеративного ответа определяется согласованным протеканием этих процессов, тогда как нарушения на любом из этапов – снижение миграционной активности, ограничение пролиферации или дефицит синтеза коллагена – ассоциируются с замедленным или патологическим заживлением [4].

Среди компонентов ВКМ особое внимание привлекает тенасцин-С (TNC) – матриклеточный белок, который синтезируется преимущественно в зонах тканевого повреждения, воспаления и активного ремоделирования, а его уровень меняется в зависимости от стадии репаративного процесса [5]. Функциональная пластичность TNC реализуется за счёт наличия множества доменов и альтернативного сплайсинга, обеспечивающих широкий спектр взаимодействий с клеточными рецепторами и компонентами внеклеточного матрикса [1, 6]. В ряде исследований показано, что он способен как стимулировать, так и ингибировать клеточную миграцию, пролиферацию и синтез компонентов матрикса, в зависимости от клеточного типа, микросреды и структуры доменов молекулы [7, 8]. Несмотря на активное изучение, механизм регуляции репарационной активности фибробластов под действием различных концентраций TNC остаётся недостаточно охарактеризованным.



Помимо компонентов ВКМ, важное значение в контексте регенерации кожи имеют алармины – молекулы, высвобождаемые в ответ на повреждение тканей и запускающие неспецифические иммунные и воспалительные реакции [6]. К числу таких аларминов относится интерлейкин-1 альфа (IL1 α) – провоспалительный цитокин, синтезируемый в ранние фазы заживления ран. IL1 α способен изменять функции фибробластов, усиливая их миграционную и синтетическую активность, а также взаимодействовать с компонентами ВКМ, модулируя их эффект [9]. Учитывая предполагаемую роль TNC в ремоделировании кожи и его возможное взаимодействие с провоспалительными сигналами, представляет интерес комплексное исследование действия TNC на фибробласты как в изолированных условиях, так и в присутствии предварительного воспалительного стимула.

Целью данной работы было определить оптимальную концентрацию TNC, способствующую стимуляции миграционной и синтетической активности фибробластов кожи человека *in vitro*, в том числе в условиях предварительной воспалительной активации с помощью IL1 α .

МЕТОДИКА

Материалы

В эксперименте была использована клеточная линия человеческих фибробластов линии DF-1 (кожа век взрослого донора), полученная из коллекции культур клеток позвоночных (ИНЦ РАН, Санкт-Петербург, Россия), паспортизированная и подтверждённая по морфологическим и молекулярным критериям. Клетки культивировали в полной питательной среде (ППС), содержащей модифицированную среду Игла Дульбекко (DMEM, «Bioinlabs», Россия), дополненную 10% (объём/объём) эмбриональной сывороткой крупного рогатого скота («Биолот», Россия) и 1% (объём/объём) антибиотик-антимикотиком (пенициллин-стрептомицин, «Биолот») при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Коммерчески доступный рекомбинантный человеческий TNC («Cloud-clone Corp», Китай) применяли в концентрациях 0.05 мкг/мл, 0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл. Рабочие растворы готовили непосредственно перед добавлением в культуральную среду. Контролем служили клетки, которые инкубировали без добавления TNC. С целью имитации тканевого повреждения и запуска сигнальных путей врождённого иммунного ответа применяли интерлейкин-1 альфа (IL1 α) («Cloud-clone Corp») в концентрации 50 нг/мл, рассматриваемый как алармин [10]. Фибробласты предварительно инкубировали с IL1 α в течение 24 ч при 37°C, после чего в ту же (не заменённую) кондиционную среду добавляли TNC в указанных концентрациях.

Были сформированы следующие экспериментальные группы:

- 1) Контроль – без добавления TNC и IL1 α ;
- 2) TNC 0.05 мкг/мл;
- 3) TNC 0.2 мкг/мл;
- 4) TNC 1 мкг/мл;
- 5) IL1 α 50 нг/мл – инкубация в течение 24 ч без последующего добавления TNC;
- 6) IL1 α 50 нг/мл + TNC 0.05 мкг/мл – добавление TNC после 24 ч инкубации с IL1 α ;
- 7) IL1 α 50 нг/мл + TNC 0.2 мкг/мл – добавление TNC после

24 ч инкубации с IL1 α ;

8) IL1 α 50 нг/мл + TNC 1 мкг/мл – добавление TNC после 24 ч инкубации с IL1 α .

Иммуноферментный анализ

Для количественного определения концентрации коллагена I типа в кондиционной среде использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Супернатанты собирали после 48 ч инкубации с исследуемыми веществами и хранили при -20°C до анализа. Концентрации коллагена I типа определяли с использованием коммерчески доступных наборов ELISA («Cloud-clone Corp», Китай), согласно инструкции производителя. Оптическую плотность измеряли при 450 нм с использованием многофункционального ридера для микропланшетов FilterMax F5 («Molecular Devices», США).

Анализ миграционной активности фибробластов

Миграционную активность клеток оценивали с использованием метода «царапины», позволяющего количественно определить способность клеток к латеральной миграции в условиях *in vitro* [11]. Метод основан на регистрации скорости закрытия искусственно созданного линейного дефекта в клеточном монослое за счёт миграции клеток в зону повреждения. Клетки дермальных фибробластов 3-го пассажа высевали в 48-луночные планшеты («Corning», США) в плотности, обеспечивающей формирование плотного монослоя (2×10² клеток/лунку), в течение 24 часов культивирования при стандартных условиях (37°C, 5% CO₂, ППС). После достижения 90-100% конfluence культуральную среду удаляли, клетки дважды промывали стерильным фосфатно-солевым буфером (PBS, pH 7.4, «Биолот»), после чего в центральной части каждой лунки наносили линейное механическое повреждение монослоя с помощью стандартного стерильного наконечника для автоматической пипетки (наконечник 200 мкл, диаметр узкого отверстия 0.45±0.04 мм). Изменение площади «царапины» фиксировали через 0 ч и 24 ч с использованием камеры-адаптера 60N-C 1×1.0 («TOURTEK», Китай). Количественный анализ полученных изображений проводили с использованием программы ImageJ/Fiji со встроенным плагином Wound healing size tool, позволяющим автоматически рассчитывать площадь «царапины». Миграционную активность рассчитывали по формуле $S_0 - S_{24} / S_0 \times 100\%$, где S_0 и S_{24} – площадь области, свободной от клеток в нулевой точке и через 24 ч.

Оценка пролиферативной активности (PDT-тест)

Для количественной оценки пролиферативной активности фибробластов человека использовали метод расчёта времени удвоения популяции клеток – PDT-тест (population doubling time). Клетки высевали в 12-луночные планшеты в плотности 5×10² клеток/см². Инкубацию проводили в течение 72 ч в стандартных условиях культивирования. По окончании инкубации клетки промывали PBS без Ca²⁺ и Mg²⁺ («Биолот»), открепляли с помощью раствора Трипсина-Версена 1:1 («Биолот»), и подсчитывали их концентрацию в автоматическом счётчике клеток C-100 («RWD», Китай).

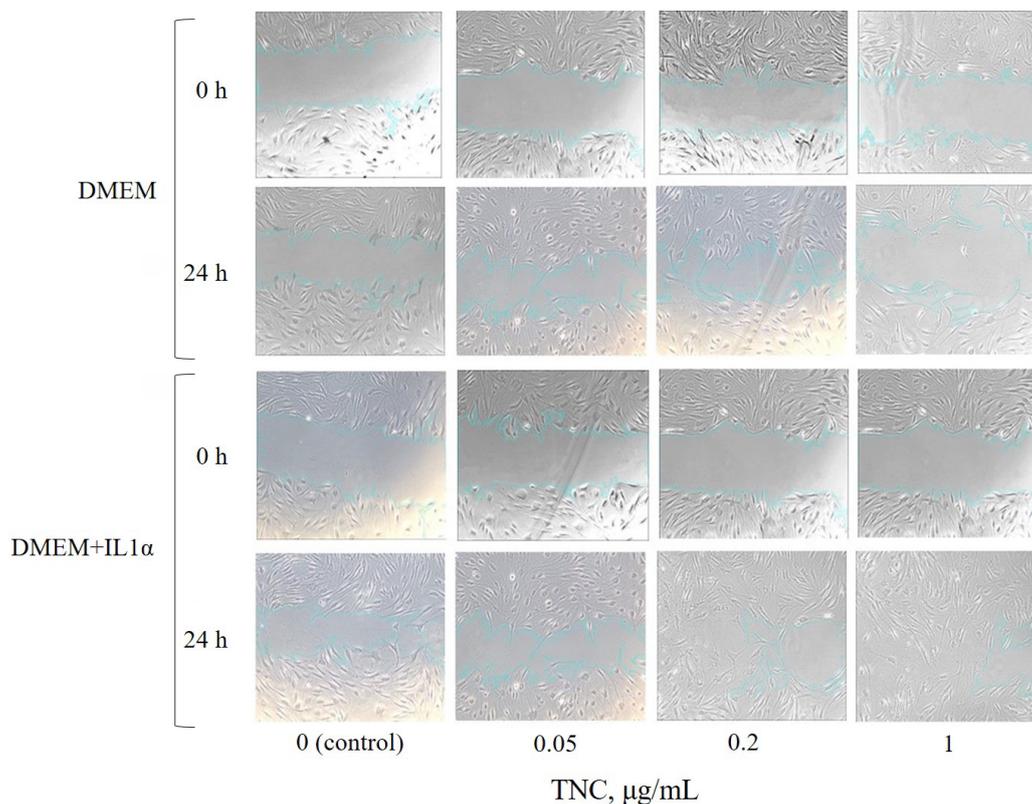


Рисунок 1. Влияние различных концентраций TNC на миграционную активность культуры клеток DF-1.

Расчёт PDT производили по формуле:

$$PDT = (t \times \log_2) / (\log N_t - \log N_0),$$

где t – время культивирования (ч), N_0 – число клеток на момент посева, N_t – число клеток на момент снятия. Каждое измерение проводилось в трёх независимых повторях.

Статистический анализ

Анализ полученных экспериментальных данных проводили, используя программное обеспечение Graph Pad Prism (version 6.04), Microsoft Office Excel 2016. Полученные данные были представлены в виде среднего значения (M) \pm стандартного отклонения (SD). Статистическая значимость различий между группами оценивалась критерием Стьюдента, при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях экспозиции высоких концентраций TNC (0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл) наблюдалось более активное продвижение фибробластов в зону дефекта, сопровождаемое формированием выраженных ламеллоподий – структур, характерных для клеток с высоким уровнем миграционной активности. Напротив, в контрольной группе и при минимальной дозе TNC (0.05 мкг/мл) сохранялось значительное незакрытое пространство в зоне повреждения (рис. 1).

Воздействие TNC приводило к усилению миграционной активности фибробластов, измеряемой по площади закрытия «царапины». Эффект был выражен при концентрациях 0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл, между которыми не зафиксировано значимых различий, что свидетельствует о достижении

плато ответа (рис. 2).

В условиях предварительной стимуляции фибробластов IL1 α отмечено увеличение площади закрытия царапины по сравнению с группами без IL1 α при концентрациях TNC 1 мкг/мл ($p < 0.05$) и 0.2 мкг/мл ($p < 0.01$). Это свидетельствует о повышении миграционной активности фибробластов под действием провоспалительного эффекта, особенно при применении умеренных (0.2 мкг/мл) и высоких (1 мкг/мл) концентрациях TNC, при этом дальнейшее повышение концентрации не приводило к статистически значимому усилению миграции.

Для оценки пролиферативной активности фибробластов был проведён расчёт времени удвоения популяции клеток – PDT-тест, который характеризует способность клеток к активному делению, что имеет важное значение при заживлении повреждений кожи, требующих репопуляции кожного лоскута [12]. Применение TNC в условиях предварительно индуцированной воспалительной активации фибробластов с использованием IL1 α способствовало значимому снижению времени удвоения популяции по сравнению с контролем, что отражает ускорение пролиферации клеток. Наибольший эффект был зафиксирован при концентрации 0.2 мкг/мл. Повышение дозировки до 1 мкг/мл не приводило к дальнейшему усилению эффекта, что может свидетельствовать о насыщении рецепторов или развитии адапционного клеточного ответа (рис. 3).

Обнаруженный дозозависимый эффект TNC согласуется с существующими представлениями о его роли как важного модулятора клеточной динамики в контексте регенерации и ремоделирования тканей. Известно, что TNC может выступать как промиграционный фактор, активируя сигнальные каскады, вовлекающие FAK, Src, ERK1/2 и PI3K/Akt, а также повышая активность металлопротеиназ

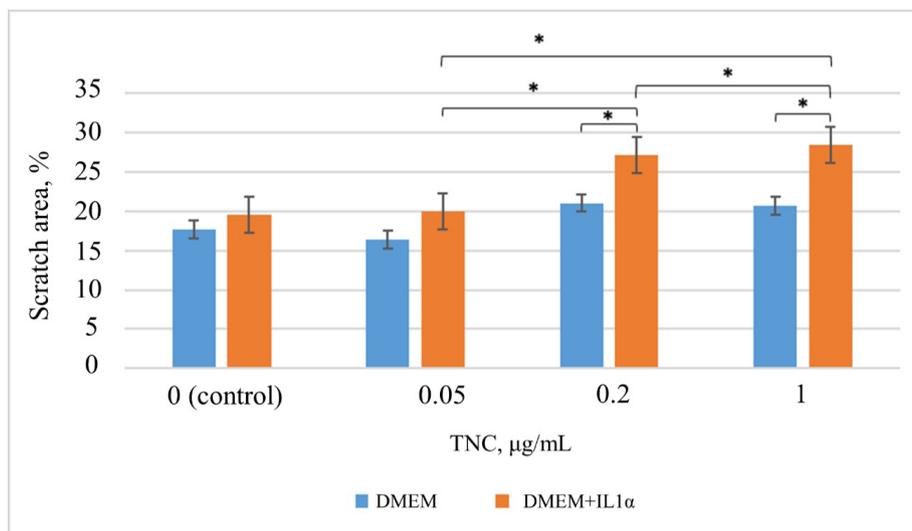


Рисунок 2. Результаты анализа миграционной активности при воздействии TNC по данным теста «царапины». * - различия статистически значимы, $p < 0.05$.

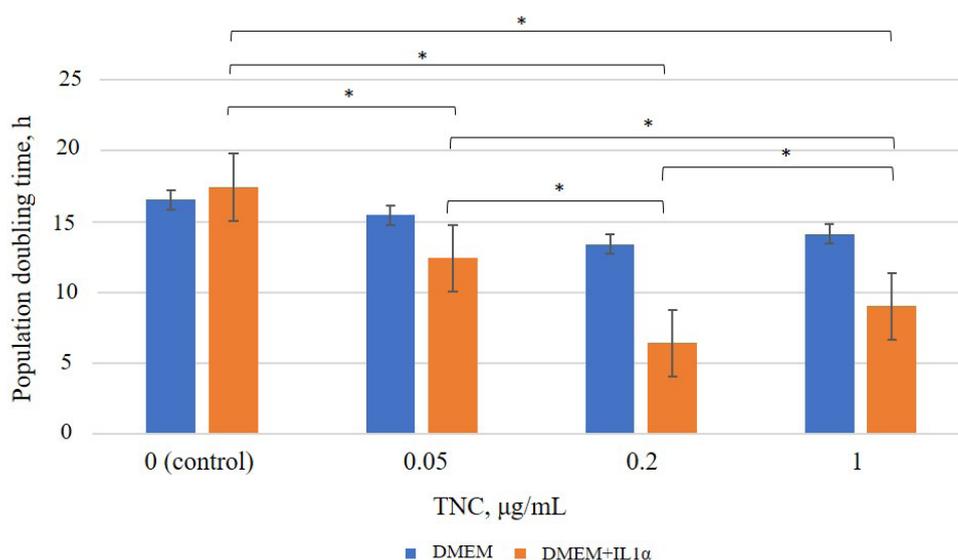


Рисунок 3. Время удвоения популяции клеток. * - различия статистически значимы, $p < 0.05$.

[13]. Одновременно, при достижении определённого порога концентрации, TNC реализует антиадгезивный эффект за счёт дестабилизации фокальных контактов и ингибирования взаимодействия клеток с компонентами внеклеточного матрикса, прежде всего с фибронектином [14]. Этот бифазный эффект может объяснять отсутствие дополнительной стимуляции клеточной миграции при увеличении концентрации TNC до 1 мкг/мл в настоящем исследовании.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что TNC индуцирует миграционную активность фибробластов DF-1 в пределах определённого концентрационного диапазона; при этом оптимальной дозой в условиях проведённого эксперимента следует считать 0.2 мкг/мл. Повышение концентрации выше этого значения не усиливает эффект, вероятно, вследствие включения механизмов, ограничивающих адгезию и направленное движение клеток. Эти данные подтверждают двойственную роль TNC в регуляции клеточной подвижности и подчеркивают его значимость как потенциального регулятора процессов репарации тканей.

Анализ данных показал, что наибольшая продукция коллагена I типа наблюдалась при концентрации TNC 1 мкг/мл в условиях стимуляции IL1α. Отмечено статистически значимое увеличение уровня коллагена по сравнению как с соответствующей группой без IL1α, так и с контрольной группой ($p < 0.05$). При концентрациях TNC 0.2 мкг/мл и 0.05 мкг/мл также наблюдалась тенденция к повышению продукции коллагена в присутствии IL1α, однако выраженность эффекта была ниже по сравнению с дозой 1 мкг/мл (рис. 4).

Полученные данные согласуются с результатами других исследований, демонстрирующих, что TNC способен усиливать неоколлагеногенез, через активацию сигнальных путей, опосредованных интегринами рецепторами и молекулами TGF-β [15]. IL1α, как ключевой провоспалительный цитокин, оказывает многогранное влияние на клеточные функции, включая стимуляцию продукции коллагена, особенно в сочетании с другими компонентами матрикса или цитокинами [16]. Обнаруженные в настоящем исследовании высокие показатели продукции коллагена I типа при совместном

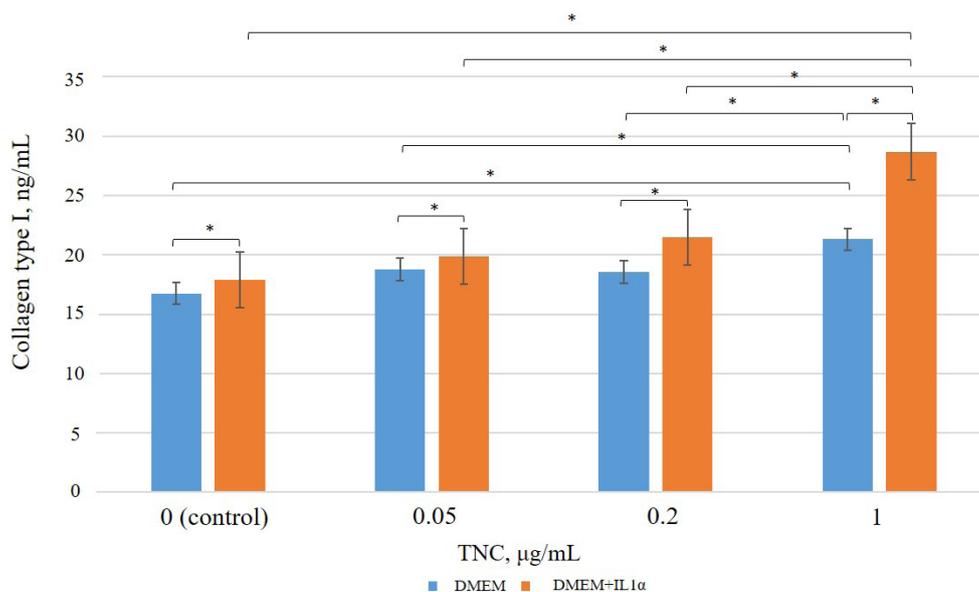


Рисунок 4. Уровни коллагена I типа в кондиционной среде после инкубации дермальных фибробластов с TNC. * - различия статистически значимы, $p < 0.05$.

воздействии IL1 α и TNC согласуются с литературными данными об усилении воспалительной и ремодулирующей активности фибробластов при подобной стимуляции [13].

Повышение концентрации до 1 мкг/мл стимулирует активацию TGF- β /SMAD-сигнального пути и увеличивает экспрессию proCOL1A1, что ведёт к усиленному синтезу коллагена I типа – механизм, подтверждённый 3D культурой фибробластов и смещением баланса MMP-1/collagen в сторону потери целостности ВКМ [17]. Кроме того, известно, что TNC регулирует экспрессию генов, кодирующих компоненты внеклеточного матрикса, включая COL1A1, через активацию ERK1/2 [13]. Повышение концентрации TNC может стимулировать эти эффекты, индуцируя переход фибробластов в активированное состояние, схожее с миофибробластным фенотипом, характеризующимся высокой секреторной активностью.

Полученные данные соответствуют известным механизмам регуляции фенотипа фибробластов в процессе заживления ран [18]. В условиях повреждения и под воздействием сигналов матриксного происхождения (в частности, TNC), фибробласты демонстрируют фенотипическую пластичность, переходя от миграционно-активного к секреторному состоянию [19]. Эти наблюдения отражают классический парный режим действия TNC: на низких дозах он стимулирует клеточную миграцию, а при более высоких синтез структурных белков ВКМ. Такой режим особенно актуален при ожогах, когда ранняя фаза заживления требует мобилизации клеток в зону повреждения, а затем интенсивного восстановления структуры дермального матрикса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что рекомбинантный TNC дозозависимо стимулирует миграционную и пролиферативную активность дермальных фибробластов человека *in vitro*, при этом наиболее выраженный эффект наблюдался при концентрациях

0.2 мкг/мл и 1 мкг/мл. Важно отметить, что TNC демонстрировал дозозависимый эффект: при 0.2 мкг/мл стимулировал миграцию, пролиферацию и повышал уровень коллагена I типа относительно контроля, при концентрации TNC 1 мкг/мл наблюдались более высокие концентрации коллагена в кондиционной среде, чем при воздействии 0.2 мкг/мл TNC, что может способствовать формированию келоидных рубцов.

Установлено, что предварительная стимуляция фибробластов IL1 α , моделирующим воспалительное микроокружение, приводило к статистически значимому усилению их ответа на последующее воздействие TNC. Усиление миграционной, пролиферативной и синтетической активности клеток после предварительной инкубации с IL1 α свидетельствовало о том, что реализация эффектов TNC может опосредоваться воспалительными сигнальными механизмами. Эти данные позволяют рассматривать TNC как потенциальный регулятор клеточной активности в ранние фазы репаративного процесса, способный модулировать взаимодействие между провоспалительной стимуляцией и матрикс-зависимой активацией фибробластов.

Дальнейшие исследования с использованием *in vivo* моделей необходимы для верификации полученных *in vitro* данных путем интеграции TNC в состав комбинированных систем доставки или биоактивных матриксов для стимуляции кожной регенерации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, связанные с использованием клеточных линий, проводили в строгом соответствии с действующими национальными и международными этическими стандартами. Экспериментальную часть исследования осуществляли в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» в условиях, исключающих загрязнение, с соблюдением принципов биобезопасности

и в соответствии с руководящими документами по работе с клеточными культурами. Исследование получило одобрение независимого этического комитета Кубанского государственного медицинского университета (протокол №122 от 06.09.2023 г.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №24-25-20083, <https://rscf.ru/project/24-25-20083/> и при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках проекта №24-25-20083.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chiquet-Ehrismann, R., Tucker, R.P. (2011) Tenascins and the importance of adhesion modulation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **3**(5), a004960. DOI: 10.1101/cshperspect.a004960
2. Tracy, L.E., Minasian, R.A., Caterson, E.J. (2016) Extracellular matrix and dermal fibroblast function in the healing wound. *Adv Wound Care*, **5**(3), 119-136. DOI: 10.1089/wound.2014.0561
3. Boraldi, F., Lofaro, F.D., Bonacorsi, S., Mazzilli, A., Garcia-Fernandez, M., Quaglino, D. (2024) The role of fibroblasts in skin homeostasis and repair. *Biomedicines*, **12**(7), 1586. DOI: 10.3390/biomedicines12071586
4. Mathew-Steiner, S.S., Roy, S., Sen, C.K. (2021) Collagen in wound healing. *Bioengineering*, **8**(5), 63. DOI: 10.3390/bioengineering8050063
5. Wang, Y., Wang, G., Liu H. (2022) Tenascin-C: a key regulator in angiogenesis during wound healing. *Biomolecules*, **12**(11), 1689. DOI: 10.3390/biom12111689
6. Rock, K.L., Latz, E., Ontiveros, F., Kono, H. (2010) The sterile inflammatory response. *Annual Review of Immunology*, **28**, 321-342. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101311
7. Midwood, K.S., Orend, G. (2009) The role of tenascin-C in tissue injury and tumorigenesis. *Journal of Cell Communication and Signaling*, **3**(3-4), 287-310. DOI: 10.1007/s12079-009-0075-1
8. Glotzbach K., Faissner A. (2024) Substrate-bound and soluble domains of tenascin-C regulate differentiation, proliferation and migration of neural stem and progenitor cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **18**, 1357499. DOI: 10.3389/fncel.2024.1357499
9. Cavalli, G., Colafrancesco, S., Emmi, G., Imazio, M., Lopalco, G., Maggio, M.C., Sota J., Dinarello, C.A. (2021) Interleukin 1 α : A comprehensive review on the role of IL-1 α in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmunity Reviews*, **20**(3), 102763. DOI: 10.1016/j.autrev.2021.102763
10. Kim, B., Lee, Y., Kim, E., Kwak, A., Ryoo, S., Bae, S. H., Azam, T., Kim, S., Kim, S., Dinarello, C.A. (2013) The interleukin-1 α precursor is biologically active and is likely a key alarmin in the IL-1 family of cytokines. *Frontiers in immunology*, **4**, 391. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00391
11. Bahar, E., Yoon, H. (2021) Modeling and predicting the cell migration properties from scratch wound healing assay on cisplatin-resistant ovarian cancer cell lines using artificial neural network. *Healthcare*, **9**(7), 911. DOI: 10.3390/healthcare9070911
12. Sharma, R.E.K.H.A., Sharma, H., Ahlawat, S., Tantia, M.S. (2018) An efficient method of generating skin fibroblast cells for cell banking. *Indian Journal of Animal Sciences*, **88**(8), 905-909. DOI: 10.56093/ijans.v88i8.82937
13. Choi, Y.E., Song, M.J., Hara, M., Imanaka-Yoshida, K., Lee, D.H., Chung, J.H., Lee, S.T. (2020) Effects of tenascin C on the integrity of extracellular matrix and skin aging. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(22), 8693. DOI: 10.3390/ijms21228693
14. Radwanska, A., Grall, D., Schaub, S., Divonne, S.B.D.L.F., Ciais, D., Rekima, S., Rupp, T., Sudaka, A., Orend, G., Van Obberghen-Schilling, E. (2017) Counterbalancing anti-adhesive effects of tenascin-C through fibronectin expression in endothelial cells. *Scientific Reports*, **7**(1), 12762. DOI: 10.1038/s41598-017-13008-9
15. Katoh, D., Kozuka, Y., Noro, A., Ogawa, T., Imanaka-Yoshida, K., Yoshida, T. (2020) Tenascin-C induces phenotypic changes in fibroblasts to myofibroblasts with high contractility through the integrin α v β 1/transferring growth factor- β /SMAD signaling axis in human breast cancer. *The American Journal of Pathology*, **190**(10), 2123-2135. DOI: 10.1016/j.ajpath.2020.06.008
16. Dinarello, C.A. (2018) Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews*, **281**(1), 8-27. DOI: 10.1111/imr.12621
17. Giménez, A., Duch, P., Puig, M., Gabasa, M., Xaubet, A., Alcaraz, J. (2017) Dysregulated collagen homeostasis by matrix stiffening and TGF- β 1 in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis patients: Role of FAK/Akt. *International journal of molecular sciences*. **18**(11), 2431. DOI: 10.3390/ijms18112431
18. Talbott, H.E. Mascharak, S., Griffin, M., Wan, D.C., Longaker, M.T. Wound healing, fibroblast heterogeneity, and fibrosis (2022). *Cell stem cell*, **29**(8), 1161-1180. DOI: 10.1016/j.stem.2022.07.006
19. Wynn, T.A., Ramalingam, T.R. (2012) Mechanisms of fibrosis: Therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature Medicine*, **18**(7), 1028-1040. DOI: 10.1038/nm.2807

Поступила: 11.08.2025

После доработки: 17.09.2025

Принята к публикации: 20.09.2025

THE EFFECT OF THE MATRICELLULAR PROTEIN TENASCIN-C ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF FIBROBLASTS IN AN EXPERIMENTAL IN VITRO INJURY MODEL

K.I. Melkonyan, A.S. Asyakina, T.V. Rusinova, E.A. Solop, A.A. Fomenko, A.A. Kozlova, D.O. Soloviy*

Kuban State Medical University, 4 Mitrofana Sedina str., 350063, Krasnodar, Russia; e-mail: cnil@ksma.ru

Wound healing is a complex, multistep process involving sequential phases of inflammation, proliferation, and remodeling. Tenascin-C (TNC) is a matricellular protein actively involved in tissue regeneration. It is upregulated in response to tissue injury and plays an important role in the regulation of cell adhesion, migration, proliferation, and extracellular matrix protein synthesis. At the same time, during the early stages of wound healing, interleukin-1 α (IL1 α) exerts a significant effect as an alarmin that initiates inflammatory activation of fibroblasts. The objective of this study was to determine the optimal concentration of TNC stimulating both the migratory and synthetic activity of human dermal fibroblasts in vitro, including under conditions of preliminary inflammatory activation with IL1 α . To this end, a comparative analysis of cell migration and proliferation was conducted, along with measurement of type I collagen synthesis using DF-1 human fibroblast cultures pre-incubated with IL1 α (50 ng/mL) for 24 h, followed by the addition of recombinant TNC at concentrations of 0.05 μ g/ml, 0.2 μ g/ml, and 1 μ g/mL. TNC exhibited a dose-dependent effect on fibroblasts: at a concentration of 0.2 μ g/ml it stimulates cell migration and proliferation, accompanied by a statistically significant increase in type I collagen synthesis compared with the control. However, this level was lower than that observed at 1 μ g/mL TNC, where a marked increase in collagen production was detected. Under conditions of IL1 α pre-stimulation, the effects of TNC were amplified, particularly at concentrations of 0.2 μ g/ml and 1 μ g/ml, indicating the potential of TNC as a regulator of cellular activity within an inflammatory microenvironment. Higher concentrations did not further increase the effect. These findings may be relevant in the context of the development of biomaterials and therapeutic agents aimed at accelerating cutaneous wound healing by modulating cellular activity, which is especially relevant for the treatment of chronic or non-healing wounds.

Key words: tenascin-C; fibroblasts; wound healing; matricellular proteins, collagenogenesis; alarmin

FUNDING

This study was supported by the Russian Science Foundation, <https://rscf.ru/en/project/24-25-20083/> grant No. 24-25-20083, and co-funded by the Kuban Science Foundation under project No. 24-25-20083.

Received: 11.08.2025, revised: 17.09.2025, accepted: 20.09.2025