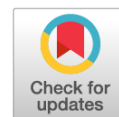


DOI: <https://doi.org/10.17816/gc642912>

EDN: BNMARE



Прорегенераторные эффекты 5-гидрокситриптамина в культуре фибробластов кожи и мезенхимальных стромальных клеток подкожно-жировой клетчатки

Т.Т. Чибирова¹, Р.И. Кокаев¹, А.А. Ислаев¹, Г.С. Кокаев¹, С.В. Скупневский^{1,2}¹ Владикавказский научный центр Российской академии наук, PCO-Алания, Михайловское, Россия;² Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова, Владикавказ, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Мезенхимальные стволовые клетки кожи и подкожно-жировой клетчатки играют важную роль в регуляции регенерации эпителиальных покровов, так как пролиферируют и дифференцируются в клетки кожи для возобновления взамен повреждённых или мёртвых клеток и также действуют аутокринным и паракринным путём для активации регенерации тканей и процесса заживления ран.

Цель. Определить в эксперименте *in vitro* влияние серотонина на регенераторный потенциал (пролиферацию, миграцию, клеточную гибель) фибробластов дермы (ФД) и мезенхимальных стромальных клеток подкожно-жировой клетчатки (МСК-ПЖК).

Методы. Исследование проводилось на первичных культурах ФД и МСК-ПЖК, получаемых от крыс линии Wistar и разделённых на группы: ФД/МСК-ПЖК — стандартная питательная среда; ФД/МСК-ПЖК — с добавлением серотонина. Морфологию и пролиферацию оценивали визуально с помощью микроскопа Axio Vert.A1 (Carl Zeiss, Германия). Изучали динамику миграции клеток в «культуральной ране». Клеточную гибель в результате апоптоза и/или некроза оценивали с помощью флуоресцентной микроскопии с применением набора Annexin V-FITC/PI (ServiceBio, Китай).

Результаты. Как ФД, так и МСК-ПЖК отреагировали на введение в стандартную среду серотонина повышением пролиферации. В результате подсчёта количества мигрировавших клеток выявлено повышение условной скорости перемещения МСК-ПЖК в условиях добавления серотонина. Отмечено также меньшее количество клеток, подвергшихся некрозу и апоптозу, в культурах клеток с добавлением в среду серотонина.

Заключение. Активация сигнальных механизмов серотонина играет важную роль в заживлении ран в контексте различных травм кожи и подкожно-жировой клетчатки, способствуя повышению клеточной жизнеспособности, пролиферации ФД, пролиферации и миграции МСК-ПЖК, что было продемонстрировано в нашем исследовании. Исходя из результатов исследования можно предположить, что агонисты серотонина или рецептора 5-гидрокситриптамина могут быть потенциальными кандидатами для улучшения заживления кожи у пациентов с травмами. При этом направление реализации сигнальных влияний серотонина на клетки имеет выраженную тканеспецифическую избирательность и варьирует в зависимости от типа рецепторов и внутриклеточных сигнальных путей активации вторичных посредников.

Ключевые слова: регенерация; фибробласты кожи; мезенхимальные стромальные клетки подкожно-жировой клетчатки; серотонин; пролиферация клеток; апоптоз; миграция клеток; повреждение кожи.

Как цитировать:

Чибирова Т.Т., Кокаев Р.И., Ислаев А.А., Кокаев Г.С., Скупневский С.В. Прорегенераторные эффекты 5-гидрокситриптамина в культуре фибробластов кожи и мезенхимальных стромальных клеток подкожно-жировой клетчатки // Гены и клетки. 2025. Т. 20, № 2. С. 152–161. DOI: 10.17816/gc642912 EDN: BNMARE

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc642912>

EDN: BNMARE

Pro-Regenerative Effects of 5-Hydroxytryptamine in Cultured Dermal Fibroblasts and Subcutaneous Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal Cells

Tamara T. Chibirova¹, Romesh I. Kokaev¹, Altynbek A. Islaev¹, Gavril S. Kokaev¹, Sergey V. Skupnevskii^{1,2}

¹ Vladikavkaz Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, RSO-Alania, Mikhailovskoye, Russia;

² North Ossetian State University, Vladikavkaz, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells of the skin and subcutaneous adipose tissue play a critical role in epithelial regeneration by proliferating and differentiating into skin cells to replace damaged or dead tissue. In addition, they act via autocrine and paracrine signaling to promote tissue repair and wound healing.

AIM: The work aimed to investigate the *in vitro* effects of serotonin on the regenerative potential—namely, proliferation, migration, and cell death—of dermal fibroblasts (DFs) and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (SAT-MSCs).

METHODS: Primary DF and SAT-MSC cultures were obtained from Wistar rats and divided into the following groups: DF/SAT-MSCs cultured in standard medium and DF/SAT-MSCs cultured with serotonin supplementation. Cell morphology and proliferation were assessed microscopically using an Axio Vert.A1 microscope (Carl Zeiss, Germany). Cell migration dynamics were studied in a scratch assay. Cell death resulting from apoptosis and/or necrosis was evaluated using fluorescence microscopy with Annexin V-FITC/PI staining (ServiceBio, China).

RESULTS: Both DFs and SAT-MSCs responded to serotonin supplementation in standard culture medium with increased proliferation. Quantification of migrated cells revealed an increase in the conditional migration speed of SAT-MSCs under conditions of serotonin supplementation. Additionally, serotonin-treated cultures demonstrated reduced levels of apoptotic and necrotic cells.

CONCLUSION: Activation of serotonin signaling mechanisms plays an important role in wound healing following various skin and subcutaneous tissue injuries by enhancing cell viability, DF proliferation, and both proliferation and migration of SAT-MSCs, as demonstrated in our study. These findings suggest that serotonin or 5-hydroxytryptamine receptor agonists may serve as promising candidates for promoting skin repair in patients with injuries. Importantly, the cellular response to serotonin signaling is tissue-specific and depends on the receptor subtype and intracellular signaling pathways mediating secondary messenger activation.

Keywords: regeneration; dermal fibroblasts; subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells; serotonin; cell proliferation; apoptosis; cell migration; skin injury.

To cite this article:

Chibirova TT, Kokaev RI, Islaev AA, Kokaev GS, Skupnevskii SV. Pro-Regenerative Effects of 5-Hydroxytryptamine in Cultured Dermal Fibroblasts and Subcutaneous Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Genes & cells*. 2025;20(2):152–161. DOI: 10.17816/gc642912 EDN: BNMARE

ОБОСНОВАНИЕ

Фибробласты дермы (ФД) и мезенхимальные стромальные клетки подкожно-жировой клетчатки (МСК-ПЖК) играют важную роль в регуляции регенерации эпителиальных покровов при повреждениях и связанных со старением морфологических дефектах, а также при структурных дефицитах. Известно, что, например, ФД и МСК-ПЖК не только пролиферируют и дифференцируются в клетки кожи для возобновления взамен повреждённых или мёртвых клеток, но также действуют аутокринным и паракринным путём для активации регенерации клеток и процесса заживления [1]. Во время заживления ран прогениторные и стволовые клетки подкожно-жировой клетчатки быстро вовлекаются в регенераторные процессы, мигрируют в участки повреждения с одновременной их дифференциацией в ФД, эндотелиальные клетки и кератиноциты [2–6]. Кроме того, ФД и МСК-ПЖК являются основными источниками белков внеклеточного матрикса (ВКМ), участвующих в поддержании структуры и функции кожи. Взаимодействие белков ВКМ с клетками кожи выражается в регуляции гомеостаза кожи и в процессе её заживления. Данные исследований свидетельствуют о том, что ФД и МСК-ПЖК участвуют в регуляции воспаления, которое возникает в ответ на повреждение ткани. Они обеспечивают изменение фенотипа макрофагов, вовлечённых в воспалительную фазу, и образование новых кровеносных сосудов, тем самым способствуя ангиогенезу за счёт увеличения дифференциации эндотелиальных клеток и миграции клеток. Кроме того, они способствуют образованию грануляционной ткани, клеток кожи и продукции ВКМ, посредством чего происходят фазы пролиферации и ремоделирования [7]. Несмотря на многообещающую способность к дифференцировке, миграции и паракринные эффекты для восстановления повреждённой ткани, применение ФД и МСК-ПЖК остаётся сложной задачей из-за низкого приживления клеток в очаге трансплантации, а следовательно, их низкой выживаемости в субоптимальных условиях трансплантации. В последнее время использование различных типов прогениторных и стволовых клеток для самостоятельной терапии заменяется подходом, при котором происходит активация собственных стволовых клеток организма с помощью внеклеточных факторов, таких как везикулы, цитокины и т. д. [8–14]. До сих пор недостаточно изучена роль многих системных гуморальных регуляторов, таких как гормоны и цитокины межклеточного взаимодействия, в частности биогенные амины, обладающие широким спектром биологической активности.

В частности, 5-гидрокситриптамин (5-НТ, серотонин) — один из наиболее изученных нейротрансмиттеров центральной нервной системы, который выполняет множество физиологических функций вне центральной нервной системы. К ним относятся стимуляция выработки цитокинов и хемокинов, вазоконстрикция, регенерация тканей, клеток (фибробластов, гладкомышечных клеток,

эндотелиальных клеток), пролиферация и миграция (эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток) и регуляция иммунной системы [15–17]. Известно, что 5-НТ оказывает своё действие путём связывания с рецепторами клеточной поверхности, которые подразделяются на семь отдельных семейств (от 5-НТ₁ до 5-НТ₇), включающих 14 различных подтипов в зависимости от их структурного разнообразия и способа действия. Эффекты 5-НТ на воспалительные клетки в значительной степени опосредованы одним или несколькими из следующих рецепторов: 5-НТ_{1A}, 5-НТ_{2A}, 5-НТ₃, 5-НТ₄ и 5-НТ₇ [18].

В одном из исследований определили роль 5-НТ как важного метаболического гормона, способствующего изменению гомеостаза глюкозы и ожирению. При этом существует причинно-следственная связь между концентрацией циркулирующего 5-НТ и метаболическими заболеваниями [19].

В исследованиях на мышинной модели частичной ортотопической трансплантации печени также обнаружено, что серотонин, полученный из тромбоцитов, опосредует регенерацию печени после обширной гепатэктомии и повышает выживаемость животных. Эти наблюдения были связаны с индукцией экспрессии рецептора 5-НТ — 5-НTR₂ — после гепатэктомии [20, 21]. Обнаруженные эффекты серотонина на усиление пролиферации ткани печени позволяют рассматривать его как кофактор стимуляции в лечении состояний, характеризующихся сниженным регенераторным потенциалом и приводящих к нарушению заживления тканей. Однако в литературе имеется очень незначительное количество информации по регенераторным и пролиферативным эффектам серотонина на другие ткани и клетки. В частности, влияние этого гормона на регенерацию кожного покрова вызвало у нас дополнительный интерес и способствовало дальнейшим исследованиям в данном направлении.

ЦЕЛЬ

Целью нашей работы было изучение влияния серотонина на регенераторный потенциал (пролиферацию, миграцию, клеточную гибель) ФД и МСК-ПЖК в эксперименте *in vitro*.

МЕТОДЫ

Исследование проведено на первичных культурах ФД и мезенхимальных стромальных клеток подкожной клетчатки, получаемых от крыс линии Wistar. Первичные культуры ФД и МСК-ПЖК получали стандартными отработанными методами, по протоколам «Выделение, культивирование и криоконсервация первичной культуры дермальных фибробластов человека» и «Выделение, культивирование и криоконсервация первичной культуры мезенхимных клеток из подкожно-жировой клетчатки человека» соответственно [22].

Жизнеспособность клеточных культур поддерживали в условиях CO₂-инкубатора (Binder CB150, Германия) путём периодической смены питательной среды (каждые 3 сут, готовая среда в соответствии с серией эксперимента), в чистых условиях ламинарного бокса микробиологической безопасности (БМБ-II-«Ламинар-С»-1,8; Neoteric, Россия).

Полученные в ходе культивирования ФД и МСК-ПЖК по достижении необходимой массы были поделены на 2 серии (всего 4 серии) по 6 биологических повторов. Пассажи производили в 3,5-сантиметровые чашки Петри по 10 тыс. клеток на чашку. Через 24 ч от пассажа стандартные питательные среды были заменены на соответствующие сериям эксперимента: ФД в стандартной питательной среде; МСК-ПЖК в стандартной питательной среде; ФД с добавлением в среду серотонина адипината («ЛОПП+К», Россия); МСК-ПЖК с добавлением в среду серотонина адипината. Введение в среду серотонина адипината в количестве 10 мг/мл производили из расчёта 6,6 мкг на 1 мл питательной среды. Данная дозировка была подобрана экспериментальным путём на животных моделях по эффективности в соответствии с перерасчётом на объёмы питательных сред для *in vivo* эксперимента.

Статистическую обработку результатов исследований осуществляли в программе MS Excel, сравнение гипотез проводили по U-критерию Манна-Уитни и по t-критерию Уэлча, используя онлайн-калькулятор (https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html; <https://www.statskingdom.com/150MeanT2uneq.html>). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Пролиферацию оценивали путём ежедневного подсчёта клеток в течение пяти дней, в 30 случайных полях зрения в каждой чашке с помощью микроскопа Axio Vert.A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 50$.

Оценку миграции ФД и МСК-ПЖК осуществляли методом scratch assay [23] в стандартных условиях и при добавлении серотонина, используя пакет программ анализа изображений ZEN (Carl Zeiss, Германия). Следующую за нанесением «царапины» визуализацию при помощи микроскопа Axio Vert.A1 выполняли через 24 ч для оценки уменьшения искусственно нанесённого дефекта. Анализ и расчёт средних величин проводили по более чем 10 полям зрения «культуральной раны», в каждой серии культур клеток, состоящей из 4 биологических повторов, двумя способами. Первым способом измеряли уменьшение «дефекта» в микрометрах от линий краёв раны на сближение. Вторым способом выполняли подсчёт количества клеток, оказавшихся (мигрировавших) за линиями краёв «царапины» с обеих сторон.

Количественный анализ клеточной гибели в результате апоптоза и/или некроза производили с помощью флуоресцентной микроскопии (система визуализации EVOS M7000; Thermo Fisher Scientific, США), методом двойного окрашивания аннексином (зелёный сигнал флуоресценции с длиной волны возбуждения равен 488 нм, испускания — 525 нм) и пропидием йодидом (propidium

iodide, PI) (красный сигнал флуоресценции с длиной волны возбуждения равен 535 нм, испускания — 615 нм). Использовали также набор Annexin V-FITC/PI (ServiceBio, Китай) в тесте «живые и мёртвые клетки» путём подсчёта в 4 чашках на серию, по 30 случайных полей зрения клеток с разными «метками»: апоптотических (аннексин⁺PI⁻); некротических (аннексин⁺PI⁺). Окрашивали аннексином и PI адгезированные клетки в чашках Петри и отмытые среды инкубации на предметных стёклах с последующей микроскопией полей зрения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение морфологии клеток в фазовом контрасте

В морфологической картине полученных культур ФД и МСК-ПЖК в стандартной питательной среде по сравнению с клетками контрольных серий с добавлением серотонина отличий не наблюдалось. В культурах отмечался большой процент звёздчатых, полигональных, расплывчатых форм клеток, соответствующих морфологической картине фибробластоподобных клеток и МСК-ПЖК соответственно, с различимыми ядрами, ядрышками (от двух до трёх), с неравномерной плотностью цитоплазмы и перинуклеарной зернистостью, наблюдаемой при наличии секреторной активности.

Изучение влияния серотонина на пролиферацию

По приросту клеток в культурах клеток с добавлением серотонина ФД отличались от таковых, содержащихся на стандартной питательной среде (рис. 1). Процент клеток в среде с серотином оказался выше на 22% в 1-й день ($p=0,0003$), на 45% — во 2-й день ($p=0,00004$), на 25% — в 3-й день ($p=0,0003$), на 35% — в 4-й день ($p=0,00003$) и на 13% — в 5-й день ($p=0,005$) эксперимента. МСК-ПЖК также отреагировали на введение в стандартную среду серотонина повышением пролиферации ($p < 0,001$). Так, процент клеток в среде с серотином оказался выше на 5,4% в 1-й день ($p=0,3$), на 12,6% — во 2-й день ($p=0,00002$), на 6,8% — в 3-й день ($p=0,49$), на 25% — в 4-й день ($p=0,0004$) и на 25,5% — в 5-й день ($p=0,03$) эксперимента.

Время удвоения ФД в контроле составило 31 ч, в культурах клеток с добавлением в среду серотонина адипината — 27 ч. В культурах МСК-ПЖК в контроле время удвоения составило 38,2 ч, а в сериях с добавлением серотонина — 35,7 ч.

Влияние серотонина на способность к миграции клеток

Оценка миграции методом «царапины» показала, что среднее расстояние, преодолеваемое ФД, инкубируемыми в условиях стандартной питательной среды,

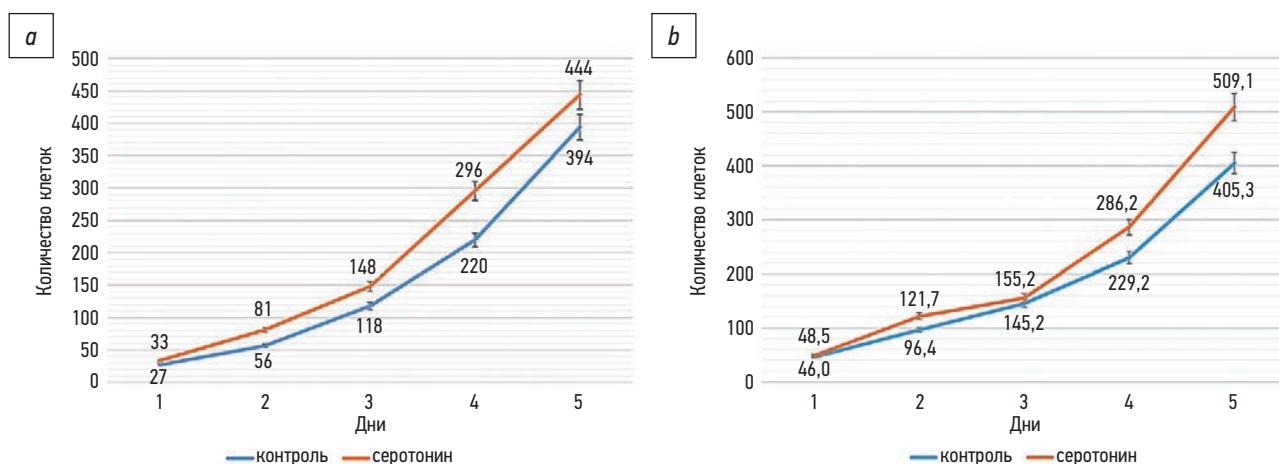


Рис. 1. Показатели прироста клеток в условиях введения серотонина адипината относительно контроля ($n=6$) при ежедневном подсчёте по 30 полей зрения в сериях эксперимента: *a* — кривая прироста ФД ($n=6$); *b* — кривая прироста МСК-ПЖК ($n=6$). ФД — фибробласты дермы, МСК-ПЖК — мезенхимальные стромальные клетки подкожной жировой клетчатки.

Fig. 1. Cell proliferation rates under serotonin adipinate exposure relative to control ($n = 6$), assessed by daily counting in 30 fields of view in experimental series.

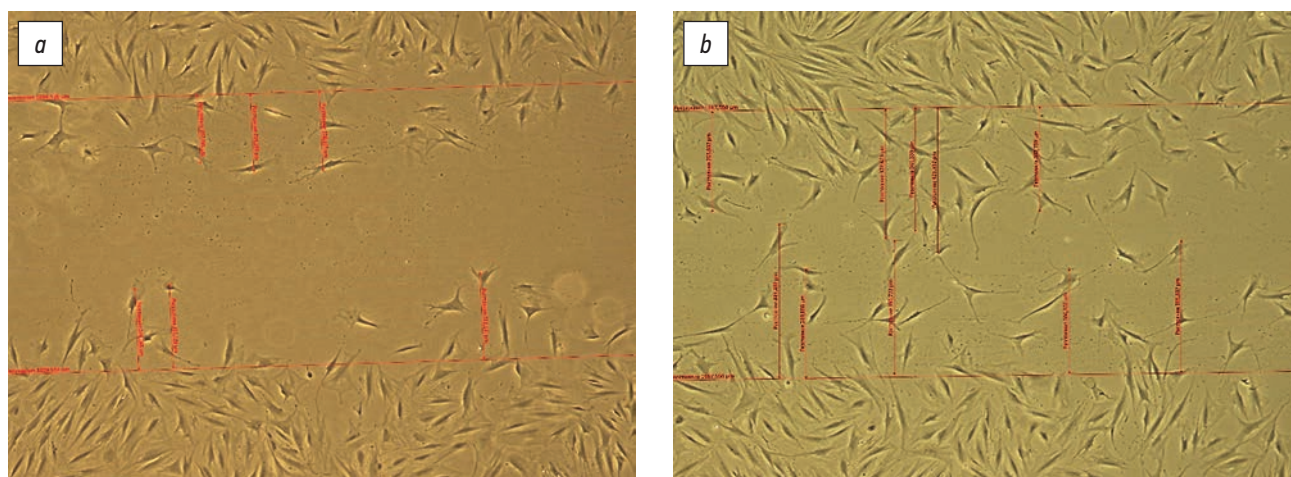


Рис. 2. Оценка миграции фибробластов кожи через 24 ч, мкм: *a* — контроль ($n=40$); *b* — в культуре с добавлением серотонина ($n=40$); $\times 50$.

Fig. 2. Assessment of dermal fibroblast migration at 24 h (μm); original magnification $\times 50$.

за 24 ч составило $244,2 \pm 13,0$ мкм (рис. 2). Для МСК-ПЖК на стандартной среде тот же показатель составил $133,1 \pm 23,0$ мкм.

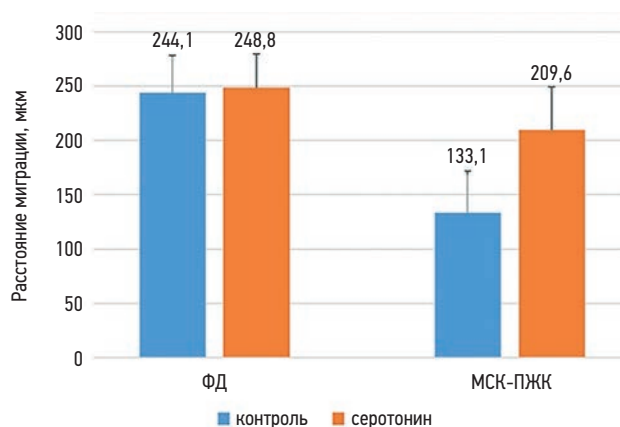
Для культур ФД инкубация в условиях добавления серотонина чуть превышала цифры стандартной среды, а у культур МСК-ПЖК привела к заметному повышению условной скорости миграции клеток. Так, за исследуемый период времени среднее расстояние миграции клеток кожи в условиях добавления серотонина составило

Рис. 3. Оценка миграции ФД ($n=40$) и МСК-ПЖК ($n=40$) через 24 ч путём измерения расстояния, преодолеваемого клетками, на фоне введения серотонина, относительно контроля ($n=40$). ФД — фибробласты дермы, МСК-ПЖК — мезенхимальные стромальные клетки подкожной жировой клетчатки.

Fig. 3. Migration of dermal fibroblasts ($n = 40$) and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells ($n = 40$) at 24 h, assessed by measuring the distance traveled by cells in serotonin-treated cultures compared with controls ($n = 40$).

$248,9 \pm 18,9$ мкм ($p=0,7$), клеток подкожно-жировой клетчатки — $209,6$ мкм ($p=0,0001$).

Подсчёт количества мигрировавших клеток показал (рис. 3) повышение условной скорости перемещения



МСК-ПЖК в условиях добавления серотонина, в то время как скорость перемещения ФД в условиях добавления серотонина не сильно отличалась от ФД в контроле.

Оценка влияния серотонина на пути клеточной гибели

Оценивали пути гибели клеток в результате апоптоза и/или некроза путём двойного окрашивания аннексином и пропидием йодидом (рис. 4). В серии исследования клеток дермального происхождения, культивируемых на стандартной питательной среде в 30 полях зрения

(по 4 биологических повтора), отмечалось в среднем от 3 до 4 апоптотических клеток (метка — аннексин $^+PI^-$) и от 22 до 24 некротических клеток (метка — аннексин $^+PI^+$). А при добавлении серотонина в питательную среду при подсчёте в 30 полях зрения отмечалось в среднем от 1 до 2 клеток с признаками апоптоза (аннексин $^+PI^-$) ($p=0,006$) и от 17 до 20 некротических клеток (аннексин $^+PI^+$) ($p=0,02$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая тенденции развития клеточных технологий, в последние годы наблюдается переход от искусственных биоматериалов к модуляции регенеративных процессов, активирующих ресурсы самого организма и ускоряющих естественные механизмы заживления. В исследовании A. Sadiq и соавт. изучалось влияние серотонина на первичные культуры ФД и неонатальные эпидермальные кератиноциты. Авторами отмечено повышение выживаемости клеток, что дополнительно подтвердилось снижением их жизнеспособности при прерывании серотониновой сигнализации путём добавления кетансерина (ингибитора $5-HTR_{2A}$) и флуоксетина [24]. Более того, многочисленные данные свидетельствуют о том, что введение аутологичных тромбоцитов улучшает заживление кожных ран [25], при этом они являются резервуарами серотонина, который, возможно, и запускает механизм адгезии и миграции клеток. С учётом вышесказанного, а также вовлечённости в процесс заживления повреждений кожных покровов дермальных и субдермальных слоёв нами была предложена гипотеза о том, что сигнализация серотонина может усиливать регенераторный потенциал не только прогениторных клеток дермальной ниши, но и клеток подкожно-жировой клетчатки и, соответственно, способствовать полноценному заживлению ран. Так, по результатам наших *in vitro* исследований, культуры клеток с добавлением

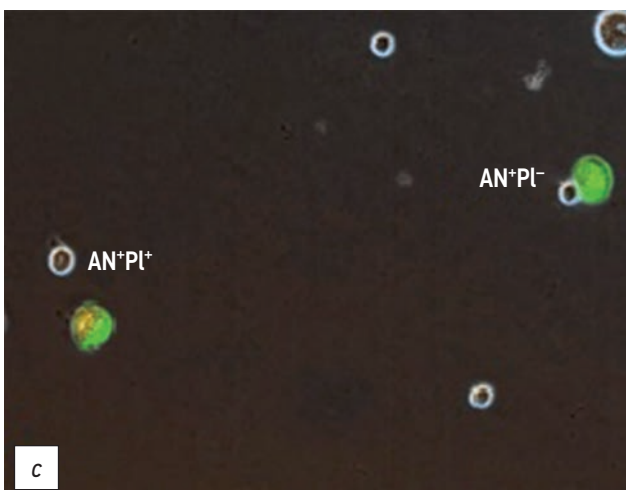
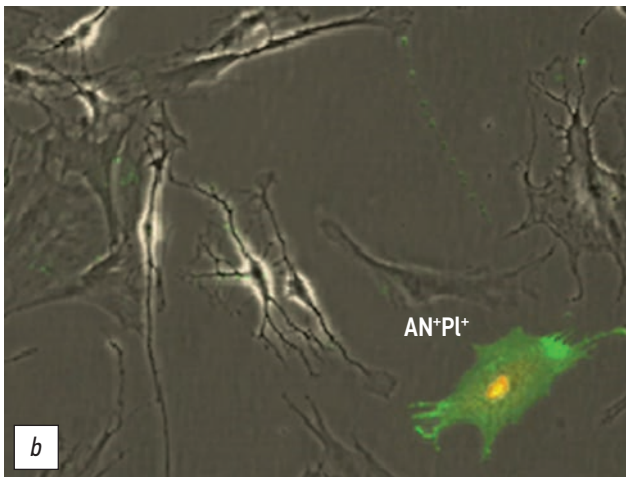
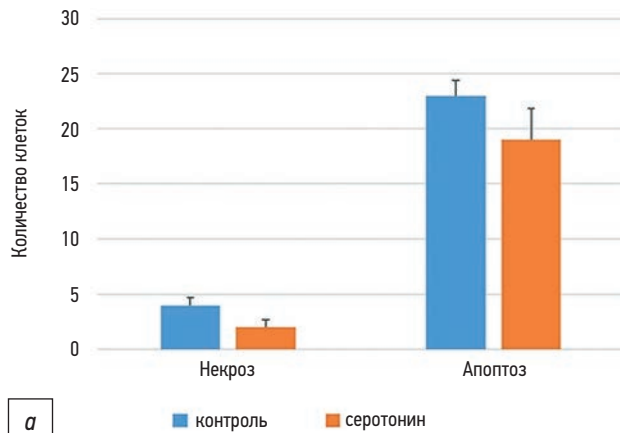


Рис. 4. Оценка клеточной гибели ФД с введением серотонина (в 4 биологических повторах по 30 полей зрения) относительно контроля, с применением метода двойного окрашивания флуоресцентными красителями — аннексином (AN) и пропидием йодидом (PI): *a* — гистограмма средних значений гибели клеток в результате апоптоза/некроза; *b* — совмещённое изображение (фотография микроскопии клеток в фазовом контрасте совмещается с двумя изображениями, полученными в длинах волн возбуждения/эмиссии — 488/525 нм для аннексина (зелёный) и 535/615 нм — для пропидия йодида (красный-оранжевый)) адгезированных клеток; *c* — совмещённое изображение (см. выше) суспендированных клеток; $\times 200$.

Fig. 4. Assessment of dermal fibroblasts cell death following serotonin exposure versus control, based on four biological replicates (30 fields of view each), using dual fluorescent staining with annexin (AN) and propidium iodide (PI); original magnification $\times 200$.

в питательную среду серотонина отличались от культур клеток контрольной группы лучшей выживаемостью и сокращением времени удвоения клеток, что в дополнение к исследованию A. Sadiq и соавт. указывает на наличие общих сигнальных механизмов регуляции стволовых и прогениторных клеток в разных тканевых нишах.

Попытка объяснения механизмов регенераторных эффектов серотонина была предпринята в серии исследований K. Naito и соавт. [26] и M. Kimura и соавт. [27], где авторы обнаружили, что 5-НТ стимулирует аутокринную секрецию TGF- α из гепатоцитов через путь 5-НТ_{2B}/Gq/фосфоинозитид-специфической фосфолипазы C/Ca²⁺, а секретируемый TGF- α напрямую стимулирует синтез ДНК и пролиферацию гепатоцитов (рис. 5). Механизм пролиферативного эффекта серотонина и активации миграции был наиболее детально изучен также на клетках гепатоцеллюлярной карциномы [28]. Активация рецептора 5-НТ_{1D} подтипа запускает реакции активации Tcf/Lef, в результате которых происходит накопление β -катенина, что приводит к запуску пролиферации и дифференцировки клеток (рис. 6). Активация рецептора 5-НТ_{1D} подтипа также может активировать FOXO6 через путь PI3K/AKT, что наряду с активацией пути AKT/FOXO3 α через 5-НТ_{2B} способствует пролиферации, образованию колоний,

миграции клеток гепатоцеллюлярной карциномы. Сигнализация через 5-НТ_{1D} также увеличивает экспрессию белков, связанных с путём Wnt/ β -катенина, и целевых генов, ассоциированных с избыточной пролиферацией у опухолевых клеток, включая β -катенин, сурвивин, С-тус и циклин D1. Эти пути также активируют комплекс mTOR и таким образом приводят к ингибированию процесса аутофагии, что является дополнительным фактором, обуславливающим позитивное влияние серотонина на пролиферацию [18].

Анализ путей клеточной гибели в исследовании [24] показал, что серотонин обладает выраженным анти-апоптотическим действием на культурах фибробластов, что также соответствует полученным нами результатам на ФД и МСК-ПЖК. Это действие выражается в снижении апоптотических проявлений, что может объяснять один из путей (или механизмов) прироста клеток под действием серотонина, наблюдаемый в нашем исследовании.

В иммунной системе адгезия и миграция клеток необходимы для различных функций, таких как экстравазация, хемотаксис, фагоцитоз, презентация антигена, секреция мигрирующих цитокинов и ВКМ, при этом активация 5-НТ может прямо или косвенно участвовать в этих механизмах. Известно, что 5-НТ действует

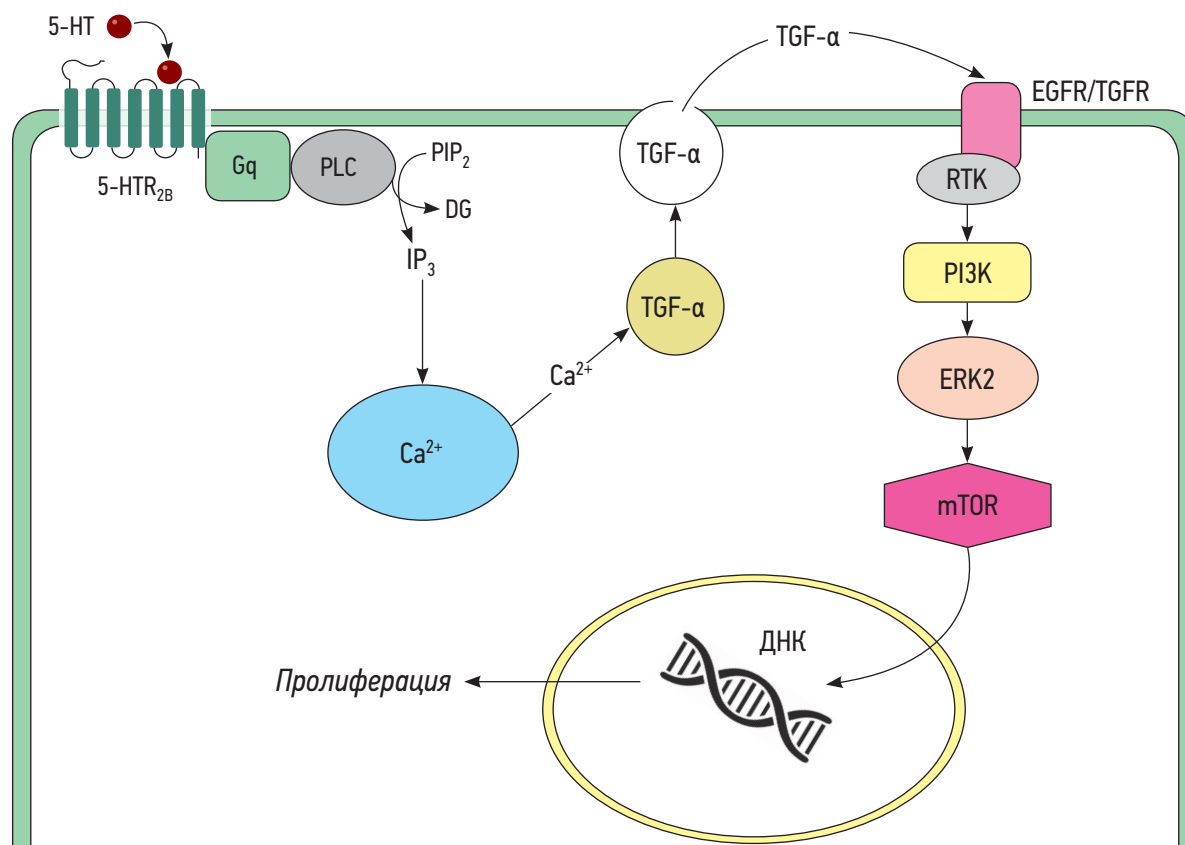


Рис. 5. Пути внутриклеточной сигнализации 5-НТ через аутокринную TGF- α -зависимую стимуляцию активации синтеза ДНК и пролиферации. 5-НТ — 5-гидрокситриптамин/серотонин; 5-НТР — 5-НТ-рецепторы; RTK — рецепторная тирозинкиназа; PLC — фосфолипаза C; PIP₂ — фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат; DG — диацилглицерин; IP₃ — инозитол-1,4,5-трифосфат; PI3K — фосфоинозитид-3-киназа; ERK2 — киназа 2, регулируемая внеклеточным сигналом; mTOR — мишень рапамицина у млекопитающих; TGF- α — трансформирующий фактор роста α .

Fig. 5. Intracellular 5-HT receptor signaling via autocrine TGF- α -dependent stimulation of DNA synthesis and proliferation.

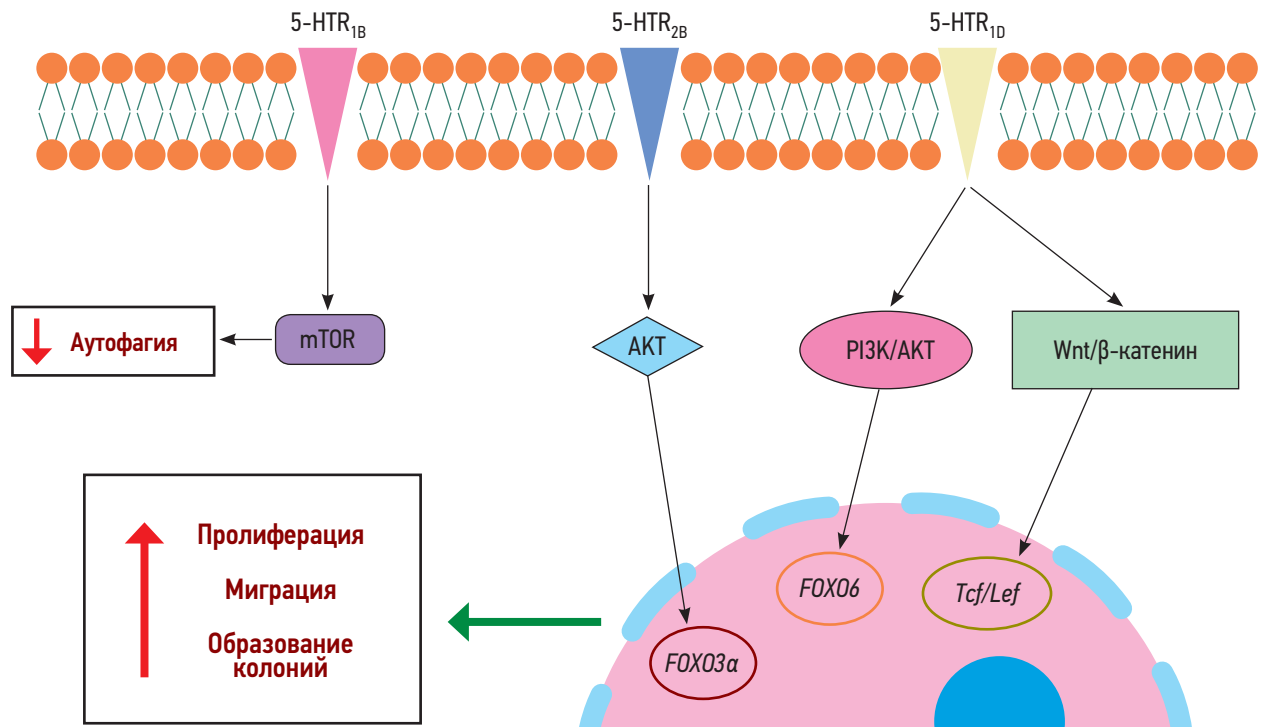


Рис. 6. Клеточные сигнальные пути в гепатоцеллюлярной карциноме, активируемые через различные типы 5-HT. 5-HT — 5-гидрокситриптамин/серотонин, 5-HTR — 5-HT-рецепторы, mTOR — мишень рапамицина у млекопитающих, PI3K — фосфоинозитид-3-киназа, AKT — серин/треониновая протеинкиназа (протеинкиназа B).

Fig. 6. Cell signaling pathways activated by various 5-HT receptor subtypes in hepatocellular carcinoma.

как хемоаттрактант для эозинофилов [29] и вызывает *in vitro* зависимость от 5-HT_{2A} миграцию человеческих эозинофилов, а также *in vivo* перемещение и миграцию эозинофилов, полученных из костного мозга мышей, в воспалённых посткапиллярных венулах [13]. По нашим данным, в культурах с добавлением в питательную среду серотонина тенденции повышения условной скорости миграции проявились у ФД, а статистически значимое, выраженное увеличение условной скорости перемещения было отмечено у клеток, полученных из подкожно-жировой клетчатки. В работе J.A.K. John Jayakumar и соавт. [29] показано, что активация серотонином 5-HTR играла значительную роль в адгезии, ремоделировании цитоскелета, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, тучных клеток, эозинофилов, дендритных клеток. Активирующие миграцию эффекты 5-HT на гладкомышечные клетки были экспериментально продемонстрированы на культивируемых гладкомышечных клетках аорты крысы [30] и гладкомышечных клетках лёгочной артерии быка [31]. Обнаружено, что в этом участвуют рецепторы 5-HT₂ и 5-HT₄ соответственно. Важно отметить, что результаты исследования *in vitro*, в частности анализ методом культуральной «царапины», зависят не только от уровня миграции клеток, но и от их пролиферативного состояния, что требует дополнительных исследований, подтверждающих процесс миграции клетки, а не её деление в области «культуральной раны».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Активация сигнальных механизмов серотонина играет важную роль в заживлении ран в контексте различных травм кожи и подкожно-жировой клетчатки, способствуя повышению клеточной жизнеспособности и пролиферации ФД, клеточной жизнеспособности, пролиферации и миграции МСК-ПЖК, что было продемонстрировано в нашем исследовании. Следовательно, можно предположить, что агонисты серотонина или 5-HTR могут быть потенциальными кандидатами для улучшения заживления кожи у пациентов с травмами. При этом сигнальное влияние серотонина на клетки имеет выраженную гистотопическую избирательность и варьирует в зависимости от рецепторов и внутриклеточных сигнальных путей активации вторичных посредников. Пролиферативные эффекты и активация миграции в опухолевых клетках и фибробластах опосредуются индукцией через рецепторы 5-HT_{1D} и 5-HT_{2B} классов, являющиеся ключевыми посредниками внутриклеточной сигнализации PI3K/AKT, а также пути Wnt/β-катенин, что наряду с mTOR-зависимым ингибированием аутофагии способствует позитивному регенераторному влиянию и опухолевой прогрессии. Более детальное выяснение механизмов позволит селективно стимулировать регенерацию ран кожи без проонкогенных эффектов. Кроме того, необходимы дальнейшие эксперименты для изучения роли серотонина и его

рецепторно-опосредованных эффектов, чтобы улучшить наше понимание роли серотонинергической системы в заживлении ран.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Т.Т. Чибирова — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов и сбор данных, подготовка и написание текста статьи; Р.И. Кокаев — административное управление планированием и проведением исследования, написание текста и редактирование статьи; А.А. Ислаев — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов и сбор данных, создание иллюстраций и редактирование статьи; Г.С. Кокаев — осуществление научно-исследовательского процесса, включая выполнение экспериментов и сбор данных; С.В. Скупневский — административное управление планированием исследования, редактирование статьи. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Благодарности. Неприменимо.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено Комитетом по этике Института биомедицинских исследований — филиала ФГБУН Федеральный научный центр «Владикавказский научный центр Российской академии наук» (протокол № 7 от 20.02.2019). Забор биологического материала осуществляли в соответствии с правилами и этическими нормами ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Источники финансирования. Отсутствуют.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: T.T. Chibirova: investigation, writing—original draft; R.I. Kokaev: project administration, writing—original draft, writing—review & editing; A.A. Islaev: investigation, visualization, writing—review & editing; G.S. Kokaev: investigation; S.V. Skupnevskii: project administration, writing—review & editing. All the authors approved the version of the manuscript to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Acknowledgments: Not applicable.

Ethics approval: The study was approved by the Ethics Committee of the Institute of Biomedical Research, a branch of the Federal Research Center Vladikavkaz Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 7, dated February 20, 2019). Biological material was collected in accordance with the guidelines and ethical standards of GOST R 53434-2009 Principles of Good Laboratory Practice.

Funding sources: No funding.

Disclosure of interests: The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: No previously published material (text, images, or data) was used in this work.

Data availability statement: All data generated during this study are available in the article.

Generative AI: No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

Provenance and peer review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The review process involved two external reviewers, a member of the editorial board, and an in-house scientific editor.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Ren S, Chen J, Duscher D, et al. Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signaling pathways. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):47. doi: 10.1186/s13287-019-1152-x EDN: BQWMPM
- EW, Seo MK, Woo EY, et al. Exosomes from human adipose-derived stem cells promote proliferation and migration of skin fibroblasts. *Exp Dermatol.* 2018;27(10):1170–1172. doi: 10.1111/exd.13451
- Ozpur MA, Guneren E, Canter HI, et al. Generation of skin tissue using adipose tissue-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg.* 2016;137(1):134–143. doi: 10.1097/PRS.0000000000001927
- Zografou A, Tsigris C, Papadopoulos O, et al. Improvement of skin-graft survival after autologous transplantation of adipose-derived stem cells in rats. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(12):1647–1656. doi: 10.1016/j.bjps.2011.07.009
- Walter MN, Wright KT, Fuller HR, et al. Mesenchymal stem cell-conditioned medium accelerates skin wound healing: an in vitro study of fibroblast and keratinocyte scratch assays. *Exp Cell Res.* 2010;316(7):1271–1281. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.026 EDN: NYYUML
- Zhou X, Ning K, Ling B, et al. Multiple injections of autologous adipose-derived stem cells accelerate the burn wound healing process and promote blood vessel regeneration in a rat model. *Stem Cells Dev.* 2019;28(21):1463–1472. doi: 10.1089/scd.2019.0113
- Mazini L, Rochette L, Admou B, et al. Hopes and limits of adipose-derived stem cells (ADSCs) and mesenchymal stem cells (MSCs) in wound healing. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1306. doi: 10.3390/ijms21041306 EDN: YMJRSI
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, et al. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585–601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x
- Raja, Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR. Wound reepithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Front Biosci.* 2007;12:2849–2868. doi: 10.2741/2277
- Brown GL, Curtsinger LJ, White M, et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta. *Ann Surg.* 1988;208(6):788–794. doi: 10.1097/00000658-198812000-00019
- White LA, Mitchell TI, Brinckerhoff CE. Transforming growth factor beta inhibitory element in the rabbit matrix metalloproteinase-1 (collagenase-1) gene functions as a repressor of constitutive transcription. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1490(3):259–268. doi: 10.1016/s0167-4781(00)00002-6 EDN: AEPGLN
- Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1996;4(4):411–420. doi: 10.1046/j.1524-475X.1996.40404.x
- Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1997;5(1):12–17. doi: 10.1046/j.1524-475X.1997.50106.x

- 14.** Mehta VB, Besner GE. HB-EGF promotes angiogenesis in endothelial cells via PI3-kinase and MAPK signaling pathways. *Growth Factors*. 2007;25(4):253–263. doi: 10.1080/08977190701773070
- 15.** Dürk T, Panther E, Müller T, et al. 5-hydroxytryptamine modulates cytokine and chemokine production in LPS-primed human monocytes via stimulation of different 5-HT₂ subtypes. *Int Immunol*. 2005;17(5):599–606. doi: 10.1093/intimm/dxh242 EDN: IPYAON
- 16.** Müller T, Dürk T, Blumenthal B, et al. 5-hydroxytryptamine modulates migration, cytokine and chemokine release and T-cell priming capacity of dendritic cells in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2009;4(7):e6453. doi: 10.1371/journal.pone.0006453
- 17.** Pakala R, Willerson JT, Benedict CR. Effect of serotonin, thromboxane A₂, and specific receptor antagonists on vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation*. 1997;96(7):2280–2286. doi: 10.1161/01.cir.96.7.2280
- 18.** Kang BN, Ha SG, Bahaie NS, et al. Regulation of serotonin-induced trafficking and migration of eosinophils. *PLoS One*. 2013;8(1):e54840. doi: 10.1371/journal.pone.0054840
- 19.** Franco R, Rivas-Santisteban R, Lillo J, et al. 5-hydroxytryptamine, glutamate, and ATP: much more than neurotransmitters. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:667815. doi: 10.3389/fcell.2021.667815 EDN: VXDJFH
- 20.** Jones LA, Sun EW, Martin AM, Keating DJ. The ever-changing roles of serotonin. *Int J Biochem Cell Biol*. 2020;125:105776. doi: 10.1016/j.biocel.2020.105776 EDN: WAACHQ
- 21.** Furrer K, Rickenbacher A, Tian Y, et al. Serotonin reverts age-related capillarization and failure of regeneration in the liver through a VEGF-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(7):2945–2950. doi: 10.1073/pnas.1012531108
- 22.** Rubina KA, Semina EV, Sysoeva VYu, et al. *Modern methods of work with mammalian cells and tissues in regenerative medicine*. Ekaterinburg: Ural University Publishing House; 2022. (In Russ.) ISBN: 978-5-19-011647-2
- 23.** Liang CC, Park AY, Guan JL. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nat Protoc*. 2007;2(2):329–333. doi: 10.1038/nprot.2007.30
- 24.** Sadiq A, Shah A, Jeschke MG, et al. The role of serotonin during skin healing in post-thermal injury. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4):1034. doi: 10.3390/ijms19041034
- 25.** Slaninka I, Fibir A, Kaška M, Páral J. Use of autologous platelet-rich plasma in healing skin graft donor sites. *J Wound Care*. 2020;29(1):36–41. doi: 10.12968/jowc.2020.29.1.36 EDN: QCSCRI
- 26.** Naito K, Moteki H, Kimura M, et al. Serotonin 5-HT_{2B} receptor-stimulated DNA synthesis and proliferation are mediated by autocrine secretion of transforming growth factor- α in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(4):570–577. doi: 10.1248/bpb.b15-00923
- 27.** Kimura M, Moteki H, Ogihara M. Role of hepatocyte growth regulators in liver regeneration. *Cells*. 2023;12(2):208. doi: 10.3390/cells12020208 EDN: LIEEUS
- 28.** Mao B, Liu S, Zhu S, et al. The Janus face of serotonin: Regenerative promoter and chronic liver disease aggravator. *Heliyon*. 2024;10(9):e30703. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e30703 EDN: IVDGUP
- 29.** John Jayakumar JAK, Panicker MM. The roles of serotonin in cell adhesion and migration, and cytoskeletal remodeling. *Cell Adh Migr*. 2021;15(1):261–271. doi: 10.1080/19336918.2021.1963574 EDN: BROPWB
- 30.** Tamura K, Kanzaki T, Saito Y, et al. Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) enhances migration of rat aortic smooth muscle cells through 5-HT₂ receptors. *Atherosclerosis*. 1997;132(2):139–143. doi: 10.1016/s0021-9150(97)00077-4 EDN: AGBYPD
- 31.** Day R M, Agyeman AS, Segel MJ, et al. Serotonin induces pulmonary artery smooth muscle cell migration. *Biochem Pharmacol*. 2006;71(3):386–397. doi: 10.1016/j.bcp.2005.10.035

ОБ АВТОРАХ

* Чибирова Тамара Тамирановна;

адрес: Россия, 363110, Михайловское, ул. Вильямса, д. 1;
ORCID: 0000-0003-0819-8915;
eLibrary SPIN: 2736-0620;
e-mail: tamaramerdenova@mail.ru

Кокаев Ромеш Иванович, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-2326-1348;
eLibrary SPIN: 5918-9041;
e-mail: romesh_k@mail.ru

Ислаев Алтынбек Азраткулович;
ORCID: 0000-0002-7800-8593;
eLibrary SPIN: 6435-1072;
e-mail: altin_islaev91@mail.ru

Кокаев Гаврил Сосланович;
ORCID: 0009-0001-8910-3537;
eLibrary SPIN: 3329-3030;
e-mail: izigavrik@gmail.com

Скупневский Сергей Валерьевич, д-р биол. наук;
ORCID: 0000-0002-6233-5944;
eLibrary SPIN: 7922-4399;
e-mail: dreammas@yandex.ru

AUTHORS' INFO

* Tamara T. Chibirova;

address: 1 Vil'yamsa st, Mikhaylovskoe, Russia, 363110;
ORCID: 0000-0003-0819-8915;
eLibrary SPIN: 2736-0620;
e-mail: tamaramerdenova@mail.ru

Romesh I. Kokaev, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor;
ORCID: 0000-0002-2326-1348;
eLibrary SPIN: 5918-9041;
e-mail: romesh_k@mail.ru

Altynbek A. Islaev;
ORCID: 0000-0002-7800-8593;
eLibrary SPIN: 6435-1072;
e-mail: altin_islaev91@mail.ru

Gavril S. Kokaev,
ORCID: 0009-0001-8910-3537;
eLibrary SPIN: 3329-3030;
e-mail: izigavrik@gmail.com

Sergey V. Skupnevskii, Dr. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0002-6233-5944;
eLibrary SPIN: 7922-4399;
e-mail: dreammas@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author