

ции организма к острому перегреванию, так и быть следствием повреждающего действия высокой внешней температуры.

Возрастные изменения в развитии сальных желез являются андрогензависимыми и касаются соотношения пролиферирующих и дифференцирующихся себоцитов, что, в конечном счете, отражается на способности сальной железы к липидогенезу. В частности, количество профилей ацинусов сальных желез и их площадь были максимальными в возрасте 20–25 лет и в дальнейшем постепенно снижались. Изменялось представительство дифференцирующихся и зрелых себоцитов. В молодости оно возрастало, в старости — уменьшалось. При этом доля базальных клеток с годами увеличивалась.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лобко П. И., Петрова В. М., Чайка Е. Н.* Физиологическая атрезия. Минск: Беларусь, 1983. 253 с.
2. *Сапин М. Р.* Состояние и перспективы исследований в области человека // Архив анатомии. 1990. № 2. С. 5–11.
3. *Степанов П. Ф.* Развитие структуры периферических нервов человека: Автореферат диссертации доктора медицинских наук. Воронеж, 1964. 38 с.
4. *Фалин Л. И.* Эмбриология человека: Атлас. М.: Медицина, 1974. 543 с.
5. *Шаповалов Ю. И.* Развитие зародыша человека в течении первых двух месяцев: Автореферат диссертации доктора медицинских наук. М., 1964. 30 с.
6. *O'Rahilly R.* Early human development and the sources of information on stagwd human embryolos. Europe J. obstetr. gynec. reprod. biol. 1974; 9/4:273–288.
7. *Paoli C.* Nasal obstruction in the neonate secondary to nasolacrimal duct cysts. Laryngoscope. 1995; 105(1):553–568.
8. *Пучков В. Ф.* Эквивалентные возрасты в эмбриогенезе цыпленка, крысы и человека // Доклады АН СССР. 1959. Т. 125. № 3. С. 684–687.
9. *Степанова И. П.* Развитие и строение глазного яблока в норме и эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль, 1989. 16 с.
10. *Калинский Л. С.* Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. М.: Медицина, 1964. 250 с.

УДК 612.7

Тасакова О. С., Голубцова Н. Н., Гунин А. Г.

ЧИСЛЕННОСТЬ ТИОРЕДОКСИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА В ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКЕ

*Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова, Чебоксары,
Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является исследование содержания тиоредоксина в фибробластах дермы человека в процессе старения, а также определение роли тиоредоксина в возрастных изменениях численности фибробластов в дерме человека.

Методика работы заключалась в исследовании гистологических срезов кожи непрямым иммуногистохимическим методом. Выявляли тиоредоксин, ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA) и виментин.

Основные результаты работы показали, что в дерме человека от 20 недель эмбриогенеза до 85 лет наблюдается увеличение доли фибробластов с положительной окраской на тиоредоксин, однако доля PCNA-положительных фибробластов снижалась. Согласно корреляционному анализу, снижение общего числа фибробластов и их пролиферативной активности достоверно связано с увеличением доли тиоредоксин-положительных фибробластов. Эти результаты позволяют предположить, что тиоредоксин участвует в возрастном уменьшении численности и пролиферации фибробластов.

Ключевые слова: тиоредоксин, дерма, фибробласты, PCNA, старение, пролиферация.

Tasakova O. S., Golubtsova N. N., Gunin A. G.

THE NUMBER OF THIOREDOXIN-POSITIVE FIBROBLASTS IN THE HUMAN DERMIS IN THE AGE DYNAMICS

Chuvash state University named after I. N. Ulyanov, Cheboksary, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to study the content of thioredoxin in fibroblasts of the human dermis during the aging process, as well as to determine the role of thioredoxin in age-related changes in the number of fibroblasts in the human dermis.

The methodology of the work consists in analysis of skin sections by indirect immunohistochemical method. Thioredoxin, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and vimentin were detected.

The main results of the work showed that in the human dermis from 20 weeks of pregnancy to 85 years of age, an increase in the proportion of fibroblasts with positive staining for thioredoxin was observed, but the proportion of PCNA-positive fibroblasts decreased. Correlation analysis showed that a decrease in the total number of fibroblasts and their proliferative activity is significantly associated with an increase in the proportion of thioredoxin-positive fibroblasts. These results suggest that thioredoxin is involved in the age-related decline in fibroblast abundance and proliferation.

Keywords: thioredoxin, dermis, fibroblasts, fibroblasts, PCNA, aging, proliferation.

ВВЕДЕНИЕ

С возрастом кожа человека приобретает внешние физиологические и морфологические признаки старения. Уменьшается количество фибробластов, кровеносных сосудов, в результате нарушается обмен межклеточного вещества соединительной ткани [1]. Эти изменения лежат в основе внешних проявлений старения кожи: сухость, растянутость кожи, морщины [2–4]. Точные причины возрастного снижения численности фибробластов в дерме неизвестны. К настоящему времени выявлен ряд механизмов возрастного снижения численности фибробластов и кровеносных сосудов в дерме [5], но проблема предотвращения и лечения возрастных изменений кожи еще далека от своего финального разрешения. Высказываются предположения о том, что изменения содержания АФК

и нарушения функционирования внутриклеточных регуляторных систем могут приводить к старению кожи [3]. Одним из механизмов, который может играть роль в возрастном снижении количества фибробластов, может быть система тиоредоксина.

Тиоредоксины представляют собой группу белков с массой 12 кДа [6]. Они содержат активные сульфгидрильные группы, от которых могут отдавать электроны и протоны на субстраты, в результате чего в субстратах восстанавливается дисульфидная связь, а тиоредоксин становится окисленным. В качестве таких субстратов могут выступать пероксидаза, рибонуклеозид-редуктаза, рибонуклеаза, факторы свертывания крови, хориогонадотропин, глюкокортикоидный рецептор. Таким образом, тиоредоксин может изменять структуру и активность множества белков, а также участвовать в нейтрализации АФК.

В литературе имеются данные об участии тиоредоксина в пролиферации и апоптозе. Гиперэкспрессия тиоредоксина наблюдается при многих опухолях, в частности, при раке молочной железы, головного мозга и др. [7]. Известно, что увеличение синтеза тиоредоксина способствует активации роста опухоли [8, 9]. Ингибирование тиоредоксина, напротив, замедляет рост опухоли и индуцирует апоптоз [10–12].

Также обнаружено участие тиоредоксина в регуляции продолжительности жизни. С возрастом количество НАДФ снижается, в результате чего уменьшается активность тиоредоксин-редуктазы и нарушается восстановление тиоредоксина [13]. Это приводит к возрастному снижению активности системы тиоредоксина [12]. Роль тиоредоксина в возрастных изменениях организма подтверждается исследованием мышей с гиперэкспрессией гена тиоредоксина-1. Они имели большую продолжительность жизни, что может быть обусловлено более высокой устойчивостью к окислительному стрессу [12].

Таким образом, имеются данные об участии системы тиоредоксина в нейтрализации АФК, пролиферации, апоптозе, но данных по содержанию тиоредоксина в фибробластах в возрастном аспекте и его участию в возрастном снижении численности фибробластов нет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были использованы фрагменты кожи передней поверхности шеи плодов человека, умерших на сроке 20–40 недель беременности, и людей, умерших в возрасте от рождения до 85 лет. После извлечения образцы кожи фиксировали в 4%-ном формальдегиде, затем заливали в парафин и изготавливали поперечные срезы толщиной 5–7 мкм. Посредством непрямого иммуногистохимического метода выявляли тиоредоксин, PCNA и виментин [1].

В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела, а в качестве вторичных антител — антикроличью OneStep Polymer систему, конъюгированную с пероксидазой. Все препараты проводили по этапам иммуногистохимической реакции одновременно за один раз.

С целью определения общего количества фибробластов на 1 мм² среза препараты фотографировали при увеличении 40 с помощью микроскопа «Nikon Eclipse 200» и камеры «DS-Ri2». Далее с помощью программы NIS-Elements Br («Nikon», Япония) определяли площадь анализируемых участков срезов и подсчитывали в них общее число фибробластов (иммуногистохимическая окраска на вимен-

тин), а также окрашенные и не окрашенные на тиоредоксин (иммуногистохимическая окраска на тиоредоксин) или PCNA (иммуногистохимическая окраска на PCNA) фибробласты. Для исследования общей численности фибробластов на 1 мм² среза, доли тиоредоксин- и PCNA-положительных фибробластов нами было использовано 124 фрагмента кожи: 1-я группа — 20–40 недель беременности (8 образцов кожи плодов женского пола, 13 — плодов мужского пола); 2-я группа — 0–20 лет (12 образцов кожи женщин, 11 — мужчин); 3-я группа — 21–40 лет (11 образцов кожи женщин, 17 — мужчин); 4-я группа — 41–60 лет (10 образцов кожи женщин, 14 — мужчин); 5-я группа — 61–85 лет (12 образцов кожи женщин, 16 — мужчин). По каждой группе данных рассчитывали средние арифметические величины (M) и их стандартные ошибки (m). Достоверность влияния возраста или пола на исследуемые параметры кожи оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Корреляционный анализ Спирмена с целью оценки взаимосвязи возраста и изучаемых параметров кожи проводили без деления данных на возрастные группы. Достоверность отличий между содержанием тиоредоксин-положительных фибробластов в разных возрастных группах оценивали по t -критерию Стьюдента. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В дерме человека от 20 недель беременности до 85 лет наблюдается увеличение доли тиоредоксин-положительных фибробластов. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на изменение процента фибробластов дермы, положительно окрашенных на тиоредоксин.

Общее количество фибробластов с возрастом, напротив, уменьшается, наиболее существенное уменьшение наблюдается до 40 лет. Корреляционный анализ выявил наличие достоверной отрицательной взаимосвязи между снижением общего количества фибробластов и увеличением доли фибробластов с положительной окраской на тиоредоксин.

Доля PCNA-положительных фибробластов также уменьшалась с возрастом, наиболее существенно — до 40 лет. Корреляционный анализ возрастных изменений доли фибробластов с положительной окраской на PCNA и общего числа фибробластов в дерме показал наличие достоверной положительной взаимосвязи ($r = 0,55$; $p < 0,05$).

Возрастное увеличение числа фибробластов с положительной окраской на тиоредоксин можно рассматривать в качестве адаптационного процесса в ответ на появление в клетках субстратов тиоредоксина. Вероятно, их количество увеличивается с возрастом. Увеличение количества тиоредоксина и тиоредоксин-редуктазы также наблюдают после воздействий ультрафиолетового излучения [14]. Показано, что в случае снижения активности тиоредоксин-редуктазы тиоредоксин теряет свою биологическую активность [6]. Также установлено, что ингибирование тиоредоксин-редуктазы приводит к остановке роста опухолей [6, 11, 15–17].

Наши данные свидетельствуют о том, что активная пролиферация фибробластов дермы, происходящая во внутриутробном периоде и молодом возрасте, происходит на фоне низкого содержания тиоредоксина, а увеличение его уровня совпадает с угнетением пролиферации фибробластов дермы.

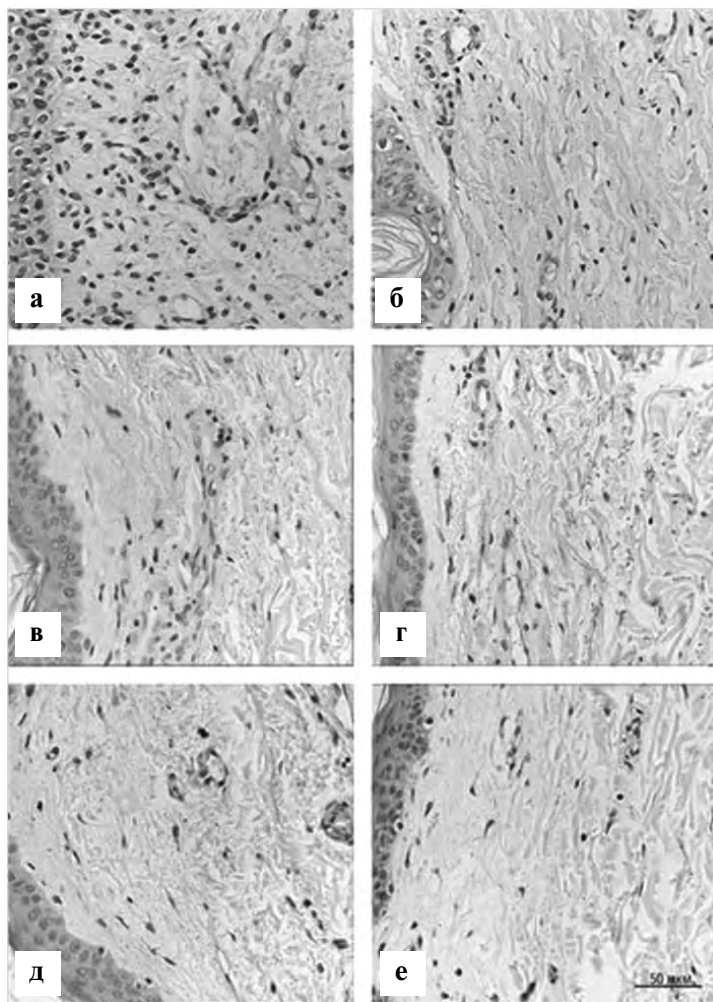


Рис. 1. Тиоредоксин в коже человека в разные возрастные периоды: а — кожа плода мужского пола на сроке 26 недель беременности (1-я группа); б — кожа мальчика 10 месяцев (2-я группа); в — кожа мужчины 18 лет (2-я группа); г — кожа мужчины 33 лет (3-я группа); д — кожа мужчины 56 лет (4-я группа); е — кожа мужчины 75 лет (5-я группа).
Иммуногистохимическое окрашивание на тиоредоксин

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля тиоредоксин-положительных фибробластов в дерме человека увеличивается от 20 недель беременности до 85 лет (*рис. 1*). Возрастной фактор оказывает достоверное влияние на количество фибробластов с положительной окраской на тиоредоксин. Общее количество фибробластов и количество PCNA-положительных фибробластов, напротив, уменьшается с возрастом. Это свидетельствует о том, что тиоредоксин играет роль в регуляции пролиферации фибробластов дермы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Gunin A. G., Kornilova N. K.* Aryl hydrocarbon receptor in human dermal fibroblasts in the aging process. *Adv. Geront.* 2021; 11(2):139–144. DOI: <https://doi.org/10.1134/S2079057021020053>
2. *Lee H., Hong Y., Kim M.* Structural and functional changes and possible molecular mechanisms in aged skin. *Int. J. Molec. Sci.* 2021;22:12489. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222212489>
3. *Nanzadsuren T., Myatav T., Dorjkhuu A., et al.* Skin aging risk factors: A nationwide population study in Mongolia risk factors of skin aging. *PLoS One.* 2022;17:e0249506. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249506>
4. *Russell-Goldman E., Murphy G. F.* The pathobiology of skin aging: new insights into an old dilemma. *Amer. J. Pathol.* 2020;190:1356–1369. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2020.03.007>
5. *Franco A. C., Aveleira C., Cavadas C.* Skin senescence: mechanisms and impact on whole-body aging. *Trends Molec. Med.* 2022;28:97–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.12.0037>
6. *Zhang Y., Sun S., Xu W., et al.* Thioredoxin reductase 1 inhibitor shikonin promotes cell necroptosis via SecTRAPs generation and oxygen-coupled redox cycling. *Free Radic. Biol. Med.* 2022;180:52–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.314>
7. *Schroder J., Schumacher U., Bockelmann L. C.* Thioredoxin interacting protein (TXNIP) is differentially expressed in human tumor samples but is absent in human tumor cell line xenografts: implications for its use as an immunosurveillance marker. *Cancers (Basel).* 2020; 12:3028. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12103028>
8. *Cui X. Y., Park S. H., Park W. H.* Auranofin inhibits the proliferation of lung cancer cells via necrosis and caspase-dependent apoptosis. *Oncol. Rep.* 2020; 44:2715–2724. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2020.7818>
9. *Hong L., Chen J., Wu F., et al.* Isoledeoxyelephantopin inactivates thioredoxin reductase 1 and activates ROS-mediated JNK signaling pathway to exacerbate cisplatin effectiveness in human colon cancer cells. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2020; 8:580517. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.580517>
10. *Chen Y., Ning J., Cao W., et al.* Research progress of TXNIP as a tumor suppressor gene participating in the metabolic reprogramming and oxidative stress of cancer cells in various cancers. *Front. Oncol.* 2020;10:568574. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.568574>
11. *Jovanovic M., Dragoj M., Zhukovsky D., et al.* Novel TrxR1 inhibitors show potential for glioma treatment by suppressing the invasion and sensitizing glioma cells to chemotherapy. *Front. Molec. Biosci.* 2020;7:586146. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.586146>
12. *Liu Y., Xue N., Zhang B., et al.* Role of thioredoxin-1 and its inducers in human health and diseases. *Europ. J. Pharmacol.* 2022; 919:174756. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174756>
13. *Cao X., He W., Pang Y., et al.* Redox-dependent and independent effects of thioredoxin interacting protein. *Biol. Chem.* 2020; 40:1215–1231. DOI: <https://doi.org/10.1515/hsz-2020-0181>

14. Oh J-H., Chung A-S., Steinbrenner H., Sies H., Brenneisen P. Thioredoxin secreted upon ultraviolet A irradiation modulates activities of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human dermal fibroblasts. Arch. Biochem. Biophys. 2004; 423:218–226. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2003.12.026>
15. Arner E. S. J. Effects of mammalian thioredoxin reductase inhibitors. Handb. exp. Pharmacol. 2021; 264:289–309. DOI: https://doi.org/10.1007/164_2020_393
16. Qian J., Xu Z., Zhu P., et al. A Derivative of piperlongumine and ligustrazine as a potential thioredoxin reductase inhibitor in drug-resistant hepatocellular carcinoma. J. Nat. Prod. 2021; 84:3161–3168. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00618>
17. Sun S., Zhang Y., Xu W., et al. Chlorophyllin inhibits mammalian thioredoxin reductase 1 and triggers cancer cell death. Antioxidants (Basel). 2021; 10:1733. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10111733>

УДК 576.08, 576.7, 57.086.3

Файрушина А. И., Хисматуллина З. Р.

РЕАКЦИЯ АСТРОЦИТОВ ПЕРЕДНЕГО КОРТИКАЛЬНОГО МИНДАЛЕВИДНОГО ЯДРА НА ГОНАДЭКТОМИЮ У КРЫС С АБСАНС-ЭПИЛЕПСИЕЙ (ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Цель исследования: анализ различий в экспрессии GFAP и ультраструктурных характеристик астроцитов переднего кортикального ядра амигдалы при абсансной эпилепсии в ответ на гонадэктомию.

Методика работы заключалась в иммуногистохимической реакции с антителами к GFAP и анализ электронограмм клеток глии.

Материал исследования — срезы головного мозга, полученные от крыс линии WAG/Rij.

Основные результаты работы показали, что вследствие стресса, вызванного дефицитом половых стероидов, в исследуемой области мозга отмечается возникновение процессов репарации с участием глиальных клеток. При резком снижении уровня андрогенов, вызванного гонадэктомией, увеличивается количество клеток, экспрессирующих GFAP, появляются признаки реактивного астроглиоза и значительные ультраструктурные изменения. Мы предполагаем, что все эти альтерации являются признаком адаптационных процессов.

Ключевые слова: абсансная эпилепсия, гонадэктомия, GFAP, амигдала, крысы линии WAG/Rij, астроциты.