

Филиппов Ф.Н., Голубцова Н.Н., Гунин А.Г.
**ЭКСПРЕССИЯ КАТ6А В ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА
В ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКЕ**

ФГБОУ ВО "Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова",
г. Чебоксары, Российской Федерации

Аннотация. В данной работе определены локализация и содержание в дерме людей разного возраста и плодов человека на разных сроках беременности гистоновой ацетилтрансферазы КАТ6А, а также её значение в развитии возрастных изменений кожи человека. КАТ6А выявляли непрямым иммуногистохимическим методом. В период от 20 до 40 недель беременности 46,46% фибробластов дермы имело положительную окраску на КАТ6А. В возрастном интервале 61-85 лет доля имmunopositiveных на КАТ6А фибробластов значительно увеличилась и составила 72,34%. Интенсивность окрашивания фибробластов на КАТ6А так же отличалась в исследуемых возрастных группах. Общее число фибробластов в дерме уменьшалось с возрастом. Наиболее значительное снижение числа фибробластов отмечено на протяжении от 20 недель беременности до 20 лет. Результаты работы позволяют предположить участие КАТ6А в возрастном уменьшении численности фибробластов в дерме человека.

Ключевые слова: дерма, онтогенез, фибробlastы, гистоновая ацетилтрансфераза КАТ6А.

Filippov F.N., Golubtsova N.N., Gunin A.G.
KAT6A EXPRESSION IN HUMAN SKIN FIBROBLASTS IN AGE

Annotation. In this work, the localization and content of histone acetyltransferase CAT6A in the dermis of people of different ages and human fetuses at different stages of pregnancy, as well as its significance in the development of age-related changes in human skin, were determined. CAT6A was detected by indirect immunohistochemical method. In the period from 20 to 40 weeks of pregnancy, 46.46% of dermal fibroblasts had a positive CAT6A stain. In the age range of 61-85 years, the proportion of fibroblasts immunopositive for CAT6A increased significantly and amounted to 72.34%. The intensity of fibroblast staining on CAT6A also differed in the studied age groups. The total number of fibroblasts in the dermis decreased with age. The most significant decrease in the number of fibroblasts was observed during the period from 20 weeks of pregnancy to 20 years. The results suggest that CAT6A is involved in the age-related decrease in the number of fibroblasts in the human dermis.

Keywords: dermis, ontogenesis, fibroblasts, histone acetyltransferase KAT6A.

Введение. В процессе жизни в коже происходят множественные морфофункциональные перестройки, которые внешне проявляются появлением признаков старения, таких как сухость, дряблость, морщинистость [1]. Уменьшение численности фибробластов и кровеносных сосудов в дерме можно рассматривать в качестве глобальных показателей, характеризующих старение кожи и лежащих в основе клинических возрастных изменений. К настоящему времени выявлен ряд механизмов возрастного снижения численности фибробластов и кровеносных сосудов в дерме [1]. Однако проблема предотвращения и лечения возрастных изменений кожи еще далека от своего финального разрешения.

С возрастом в нашем организме происходят различные эпигенетические изменения, в том числе патологические модификации гистонов и изменения в

процессе метилирования ДНК. Эти изменения могут способствовать нестабильности генома и повышать риск воспаления, рака и других проблем со здоровьем. Ацетилирование является одной из ключевых регуляторных посттрансляционных модификаций белков. Например, ацетилирование гистонов нейтрализует их положительный заряд и ослабляет взаимодействие с ДНК, способствуя деконденсации хроматина и транскрипции [1]. Реакция ацетилирования катализируется ферментами семейства лизинацетилтрансфераз (lysineacetyltransferase, КАТ), переносящих ацетильную группу от ацетил-КоА на остатки лизина белка мишени [1].

Ацетилтрансферазы КАТ6 играют ключевую роль в регуляции транскрипции, в процессах развития, в поддержании гемопоэтических и нервных стволовых клеток, в дифференцировке гемопоэтических клеток, в регуляции клеточного цикла, а также митоза [2].

Гистоновая ацетилтрансфераза КАТ6А принадлежат к третьей группе гистоновых ацетилтрансфераз. Она обладает способностью ацетилировать остатки лизина в гистоновых и некоторых негистоновых белках [2]. Для проявления ацетилазной активности КАТ6А объединяется в комплекс с BRPF1 и EAF6, являющихся регуляторами состояния хроматина [5]. Гистоновая ацетилтрансфераза КАТ6А участвует в эмбриогенезе, росте и дифференцировке тканей, прогрессировании и метастазировании опухолей [3].

Установлено, что в процессе старения происходит снижение активности КАТ6А [4]. Ингибирование КАТ6А способствует выходу клеток из клеточного цикла и ускоряет старение без повреждения ДНК [4]. Подавление КАТ6А также потенцирует индуцируемое онкогенами старение клеток в модели гепатоцеллюлярной карциномы. Показано, что уменьшение активности КАТ6А ингибирует клеточную пролиферацию, миграцию, прогрессирование опухолей.

КАТ6А играет важную роль в процессе формирования клеток крови, влияя на обновление, рост и созревание как В-, так и Т-лимфоцитов. [2].

Выявлено, что, как активация, так и подавление белков КАТ6 играет определенную роль в развитии, прогрессировании рака и его устойчивости к терапии. Это позволяет предположить, что они могут выступать в качестве как онкогенов, так и опухолевых супрессоров [2].

Было обнаружено, что увеличение активности КАТ6А необходимо для трансформации моноцитов в макрофаги и поляризации макрофагов в фенотип М1. Также это способствует синтезу провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 β , фактор некроза опухоли альфа и интерлейкин-6. Кроме того, увеличение активности КАТ6А усиливает фагоцитарную активность макрофагов М1, что имеет важное значение для их эффективного функционирования.

Таким образом, имеющиеся данные о КАТ6А показывают её влияние на множество процессов, происходящих в организме человека. Однако работ, раскрывающих наличие или отсутствие КАТ6А, уровень её экспрессии в

структурах кожи человека в разные стадии онтогенеза в мировой литературе нет.

Цель данного исследования - изучение локализации и содержания в дерме людей разного возраста и плодов человека на разных сроках беременности гистоновой ацетилтрансферазы КАТ6А, а также определение её значения в развитии возрастных изменений кожи человека.

Материалы и методы. Исследование проведено на кусочках кожи из нижней части передней поверхности шеи, которые извлекались при аутопсии у плодов и людей, умерших от различных причин от 20 недель беременности и до 85 лет. КАТ6А выявляли непрямым иммуногистохимическим методом. Все препараты проводили по этапам иммуногистохимической реакции одномоментно.

Результаты группировали по возрастному принципу: 1-я группа — 20–40 нед. беременности; 2-я — 0–20 лет; 3-я — 21–40 лет; 4-я — 41–60 лет; 5-я — 61–85 лет. Для исследования КАТ6А было использовано 106 кусочков кожи — 44 женщин и 62 мужчин: 1-я группа — 16 образцов кожи, 2-я — 22, 3-я — 18, 4-я — 22, 5-я — 28.

Результаты. При использованных методах анализа специфическое окрашивание имели фибробласты дермы и фибробласты адвентиции кровеносных сосудов, которые выявляли во всей толщине дермы как плодов, так и людей всех исследованных групп. Количество клеток с положительным окрашиванием на КАТ6А отличалось в изученных возрастных группах.

В 1-й группе (20-40 недель беременности) $46,46 \pm 3,13\%$ фибробластов дермы имело положительную окраску на КАТ6А. В группе 2 (0-20 лет) процент иммунопозитивных фибробластов уменьшился и составил $43,26 \pm 3,84\%$. В 3-й группе (21-40 лет) количество фибробластов, имеющих положительное окрашивание на КАТ6А, было практически таким же как в группе 1 и составило $47,39 \pm 3,85\%$. В 4-й группе (41-60 лет) $55,50 \pm 5,17\%$ фибробластов дермы имели положительное окрашивание на КАТ6А. В группе 5 (61-85 лет) доля иммунопозитивных фибробластов значительно увеличилась и составила $72,34 \pm 6,66\%$. Таким образом, в коже человека от 0 до 85 лет наблюдалось увеличение процента фибробластов дермы, имеющих положительную окраску на КАТ6А. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p < 0,001$) возраста на изменение доли фибробластов, положительно окрашенных на КАТ6А.

Интенсивность специфического окрашивания фибробластов дермы на КАТ6А отличалась в разных возрастных группах. В 1-й группе (20-40 недель беременности) уровень экспрессии КАТ6А составлял $0,15 \pm 0,02$ ед.опт.пл. Во 2-й и 3-й группах уровень экспрессии КАТ6А был больше, чем в 1-й группе, — $0,22 \pm 0,02$ и $0,23 \pm 0,01$ ед.опт.пл. соответственно. В 4-й группе интенсивность окрашивания фибробластов на КАТ6А составила $0,26 \pm 0,01$ ед.опт.пл. и в 5-й группе — $0,26 \pm 0,01$ ед.опт.пл., соответственно.

Интенсивность окрашивания фибробластов адвентиции кровеносных сосудов на КАТ6А в 1-й группе (20-40 недель беременности) составила

0,15±0,02 ед.опт.пл. В последующих возрастных группах экспрессия КАТ6А колебалась от 0,29 до 0,31 ед.опт.пл.

Было выявлено, что количество фибробластов в дерме уменьшается с возрастом. Наиболее заметное снижение числа фибробластов наблюдалось на протяжении от пренатального периода до 11–20 лет. В последующих возрастных группах практически не наблюдалось дальнейшего уменьшения числа фибробластов в дерме. Корреляционный анализ взаимосвязи между количеством фибробластов и возрастом продемонстрировал наличие достоверной высокой отрицательной взаимосвязи ($r=-0,69$; $p<0,05$). Однофакторный дисперсионный анализ также выявил достоверный возрастзависимый характер снижения числа фибробластов в дерме ($p<0,001$).

Исследование количества PCNA-положительных фибробластов также показало, что их численность неуклонно снижается с возрастом. Особенно заметное уменьшение численности PCNA-позитивных фибробластов наблюдается с 21 года. Однофакторный дисперсионный анализ выявил наличие достоверного влияния ($p<0,001$) возраста на уменьшение доли PCNA-положительных фибробластов в дерме человека.

Выводы. Существенное уменьшение числа фибробластов, содержащих КАТ6А и снижение уровня экспрессии КАТ6А в фибробластах дермы, происходящее от рождения до 85 лет, сочетается со снижением общей численности фибробластов в дерме с возрастом. Это позволяет предположить участие КАТ6А в возрастном снижении численности фибробластов в дерме человека.

Литература

1. Куликова, В. А. РОЛЬ NAD В РЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССАХ В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ. / В. А. Куликова, Д. В. Громыко, А. А. Никифоров // БИОХИМИЯ. – 2018. – Т. 83, № 7. – С. 987 – 1001.
2. Wiesel-Motiuk, N. The key roles of the lysine acetyltransferases KAT6A and KAT6B in physiology and pathology / N. Wiesel-Motiuk, G. Yehuda // Drug Resist Updat. – 2020. – 53:100729. doi: 10.1016/j.drup.2020.100729. Epub 2020 Oct 7.
3. Yang, XJ. MOZ and MORF acetyltransferases: Molecular interaction, animal development and human disease / XJ. Yang // Biochim Biophys Acta. – 2015. – Vol. 1853, № 8. – P.1818-1826.
4. Baell, JB. Inhibitors of histone acetyltransferases KAT6A/B induce senescence and arrest tumour growth / JB. Baell, DJ. Leaver, SJ. Hermans [et al.] // Nature. – 2018. – Vol. 560, №7717. – P. 253-257.
5. Huang, F. Regulation of KAT6 Acetyltransferases and their roles in cell cycle progression, stem cell maintenance, and human disease / F. Huang, SM. Abmayr, JL. Workman // Mol Cell Biol. – 2016. – Vol. 36, №14. – P. 1900-1907.