Особенности экспрессии маркеров апоптоза клетками кожи при старении

Витрук Т.Ю., Рязанцева Н.В., Пестерев П.Н., Мустафина Л.Р.

Features of the apoptosis markers expression by skin cell with ageing

Vitruk T.Yu., Ryazantseva N.V., Pesterev P.N., Mustafina L.R.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Витрук Т.Ю., Рязанцева Н.В., Пестерев П.Н., Мустафина Л.Р.

Проведено иммуногистохимическое исследование кожи, направленное на верификацию маркеров апоптоза p53, bcl-2 и bax в кератиноцитах эпидермиса пациенток двух возрастных групп (16—44 и 45—64 года). Выявлено, что при хронологическом старении кожи увеличивается содержание белков p53 и bax в клетках эпидермиса у пациенток старшей возрастной группы. Полученные данные свидетельствуют о кумулятивном повреждающем эффекте множества проапоптотических факторов (окислительный стресс, УФ-излучение, ионизирующая радиация, действие химических препаратов и др.) на клетки эпидермиса при старении.

Ключевые слова: старение кожи, апоптоз, кератиноциты.

The immunohistochemical study of skin was conducted to verify presence of p53, bcl-2 and bax apoptosis markers in epidermal keratinocytes of patients from two age groups: 16 to 44 years old and 45 to 64 years old. It was discovered that with chronological ageing of skin the expression levels of p53 and bax apoptosis markers are raised by epidermal cells in patients of elder age group. Obtained data testifies to cumulative damaging effect of a quantity of proapoptotic factors (oxidative stress, UV-waves, ionizing radiation, chemical reagents etc.) on epidermal cells with ageing.

Key words: skin ageing, apoptosis, keratinocytes.

УДК 616.5-091.818

Введение

В последнее время накоплены знания о значительной роли апоптоза в старении клеток в частности и организма в целом, а также в развитии возрастной патологии [27]. Апоптоз — программированная гибель клетки, выполняющая ключевую роль в поддержании клеточного гомеостаза [23]. Нарушения механизмов регуляции апоптоза приводят к накоплению поврежденных клеток, что является одной из составляющих процесса естественного старения организма [1].

В живых клетках организма, включая клетки кожи человека, содержится протеин p53, кодируемый геном *p53*. Получая сигналы о клеточном повреждении, белок p53 либо останавливает клеточный цикл для репарации генома, либо индуцирует апоптотическую гибель клетки. Активированный белок p53 одновременно осуществляет индукцию белков-промоторов апоптоза bax, bak и bad, а также репрессию белков-ингибиторов апоптоза — bcl-2 и bcl-x [7, 12, 31]. Таким образом, дисбаланс между экспрессией генов белков, отвечающих за выживаемость клеток, и семейства белков, ответственных за гибель клеток [21, 26], является механизмом, контролирующим гомеостаз клеток кожи.

Доказано, что ген *p53* осуществляет контроль репликативного старения клеток. Как известно, естественный процесс клеточного старения завершается остановкой роста после определенного числа делений (критерий Хейфлика). По современным представлениям, причиной этого служит укорочение теломер при каждом делении клетки. В старых клетках наблюдается активация гена *p53*. По-видимому, это происходит в ответ на хромосомные разрывы, образующиеся в процессе укорочения теломер в стареющих клетках [19]. Напротив, инактивация *p53* приводит к тому, что клетки продолжают неограниченно пролиферировать. Например, фибробласты мышей, дефектные по гену *p53*, не стареют в культуре [17].

Многие исследователи указывают на накопление в дерме с возрастом стареющих фибробластов, отличающихся устойчивостью по отношению как к пролиферативным, так и проапоптотическим сигналам [34]. Причем последний эффект обусловлен, в первую очередь, повышением экспрессии bcl-2 и репрессией генов G1-фазы. Резистентность фибробластов к апоптозу может являться одним из факторов, способствующих накоплению клеток с повреждениями ядерной и митохондриальной ДНК, являющихся маркерами хроно- и фотостарения [8]. Установлено, что в фибробластах келоидных рубцов также нарушены механизмы апоптоза клеток, который важен для регуляции количества клеток при формировании нормального рубца. Так, в келоидных фибробластах отсутствуют каспазы 3, 8 и 9 (белки, передающие апоптотический сигнал от Fas-рецептора) [2]. Кроме того, в тканях келоида имеет место повышение экспрессии трансформирующего ростового фактора-β_1 (ТФР-β_1). Добавление его к культурам нормальных и келоидных фибробластов ингибирует Fas-опосредованный апоптоз, а нейтрализация аутокринного ТФР-β_1 в культуре келоидных фибробластов снимает их апоптотическую резистентность [13, 16].

Имеются данные о повышении с возрастом резистентности кератиноцитов к апоптозу, что может являться результатом блокады wt p53 другими белками, в первую очередь эндогенными bcl-2 и MDM-2, или мутаций гена и образования мутантного типа протеина — mt p53 [11, 24, 34].

По мнению ряда авторов, в сохранности кератиноцитов с фотоповрежденными митохондриальными ДНК ключевую роль играет протеин bcl-2 [11, 15, 18, 22, 28, 32, 38]. Его локализация на мембране митохондрий вблизи источника свободных радикалов дает основание предполагать, что bcl-2 предотвращает апоптоз клетки, ингибируя выработку радикалов или действуя как антиоксидант [10]. В эпидермисе bcl-2 экспрессируется базальными кератиноцитами и, следовательно, обеспечивает выживание активно пролиферирующих клеток [20, 35]. Согласно последним данным, основным механизмом антиапоптотического эффекта bcl-2 является стабилизация мембран митохондрий, что ведет к блокаде выхода в цитоплазму клетки цитохрома С [7, 37].

Однако изучение другими исследователями возрастных изменений кожи методом электронной микроскопии показало, что характерной особенностью эпидермиса пожилых и старых людей является увеличение количества апоптозных кератиноцитов в базальном слое эпидермиса [3].

Учитывая важную роль программированной гибели клеток в регуляции старения кожи, проведено иммуногистохимическое исследование, направленное на верификацию про- и антиапоптозных белков в клетках эпидермиса женщин различных возрастов.

Материал и методы

Объектом исследования служили биоптаты кожи здоровых женщин (16 человек) в возрасте от 16 до 64 лет. Образцы кожи были получены при вмешательствах, связанных с хирургической коррекцией косметических недостатков области лица, шеи и груди. При отборе пациенток для данного исследования учитывались следующие критерии: возраст, состояние репродуктивной системы, сопутствующие соматические заболевания, тип светочувствительности кожи по Фитцпатрику, частота инсоляции. Пациентки были разделены на две возрастные группы: от 16 до 44 лет и от 45 до 64 лет.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах кожи с помощью двухэтапного авидин-биотинового метода, включавшего демаскировку антигенов высокотемпературной обработкой ткани с использованием антител p53, bcl-2, bax, и визуализирующей системы фирмы «Dako Cytomation» (США) [6]. На первом этапе исследования стекла со срезами прогревали в термостате (при температуре 56 °С) в течение 30 мин. Далее проводили депарафинизацию и дегидратацию срезов последовательно в ксилоле № 1, 2 и 3 (при температуре 37 °С); затем трехкратно в 96%-м спирте. В каждом растворе образцы выдерживали по 10 мин, после чего промывали в двух сменах дистиллированной воды по 5 мин и проводили кипячение в цитратном буфере (0,01 моль, pH = 6,0) в СВЧ. После охлаждения стекла промывали в двух сменах фосфатного буфера по 5 мин. Наносили по 50 мкл peroxidase block (3% hydrogen peroxide in water) с целью блокирования эндогенной пероксидазы и помещали во влажную камеру на 10 мин при комнатной температуре. После этого срезы промывали в дистиллированной воде в течение 5 мин, затем — в фосфатном буфере (5 мин). Далее проводили инкубацию срезов во влажной камере с первыми (специфичными) антителами (p53, bcl-2, bax) (по 50 мкл) при тем-

пературе 4 °С. На втором этапе исследования кожные срезы промывали в двух сменах фосфатного буфера по 5 мин. Далее производили инкубацию со вторыми (биотинилированными) антителами (biotinylated link universal) (по 50 мкл). Стекла помещали во влажную камеру и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, промывали в двух сменах фосфатного буфера по 5 мин. Затем проводили инкубацию со стрептавидин-биотин-пероксидазным комплексом (streptavidin-HRP). Для выявления пероксидазы хрена диаминобензидином (DAB + substrate buffer, DAB + chromogen) раствор готовили *ex tempore* по инструкции, прилагающейся к набору, для чего брали 40 мкл DAB + chromogen и 1 000 мкл DAB + substrate buffer. Проявление реакции контролировали под микроскопом. Срезы промывали в двух сменах дистиллированной воды по 5 мин и докрашивали гематоксилином в течение 15—20 с. Стекла со срезами дифференцировали водой. Далее срезы проводили через системы в следующей последовательности: трехкратно в 96%-м спирте; затем в ксилоле, № 1, 2 и 3, оставляя в каждом растворе на 10 мин. Затем кожные срезы заключали в канадский бальзам.

Интерпретация результатов исследования препаратов кожи проводилась с помощью светового микроскопа МБИ-6 при увеличении — об. $10^{\times}$, $20^{\times}$; ок. $5^{\times}$, $10^{\times}$ (дополнительное увеличение микроскопа $2{,}5^{\times}$). Фотографирование срезов кожи проводили цифровой фотокамерой «Olympus C-310 zoom». Для оценки результатов иммуногистохимической реакции использовали полуколичественный способ. При этом выраженность иммунопозитивной реакции оценивали степенью интенсивности окраски срезов (отрицательная, слабо выраженная (+), умеренно выраженная (++) и выраженная (+++)). Долю окрашенных клеток выражали в процентах.

Статистическую обработку данных проводили при помощи компьютерной программы SSPS v. 11.5. Так как объемы выборки не удовлетворяли требованиям параметрических критериев, для сравнения количественных показателей у исследуемых групп применяли критерий Манна—Уитни. Анализ качественных данных проводился с помощью точного критерия Фишера. При уровне значимости $p < 0{,}05$ различия сравниваемых величин считали статистически достоверными. Если количество градаций качественных показателей превышало два, то отдельно анализировали каждую градацию с помощью точного критерия Фишера. Коррекцию эффекта множественного сравнения осуществляли с помощью поправки Бонферрони.

Результаты и обсуждение

Как показали проведенные исследования, средние значения содержания белка p53 в клетках эпидермиса у пациенток обеих возрастных групп были достоверно различны ($(2{,}24 \pm 2{,}24)$ и $(30{,}41 \pm 15{,}12)$% соответственно, $p < 0{,}05$), при этом степень выраженности иммунопозитивной реакции между группами достоверно не различалась (табл. 1, 2).

Таблица 1

Экспрессия маркеров апоптоза p53, bcl-2 и bax клетками эпидермиса у пациенток разных возрастных групп

Показатель	Возраст пациенток, лет		*p*
	16—44 (8 человек)	45—64 (8 человек)	
p53, %	2,24 ± 2,24	30,41 ± 15,12	0,029
bcl-2, %	2,66 ± 2,66	16,64 ± 11,76	0,204
bax, %	25,9 ± 14,38	78,75 ± 11,25	0,046

Таблица 2

Встречаемость иммунопозитивной реакции в клетках эпидермиса при выявлении маркера апоптоза p53 у пациенток разных возрастных групп, абс. (%)

Возраст пациенток, лет	Интенсивность p53		*p*
	–	+++	
16—44	7 (87,5)	1 (12,5)	0,248
45—64	5 (62,5)	3 (37,5)	

Многочисленные исследования выявили, что в эпидермисе фотоповрежденной кожи отмечается высокая экспрессия протеина p53 [29, 30]. В то же время иммуноокрашивание этого белка в эпидермисе закрытых участков кожи либо отсутствует, либо определяется на невысоком уровне [9]. Хронологическое и фотостарение кожи сопровождается увеличением доли клеток эпидермиса и дермы, экспрессирующих p53, а также аккумуляцией протеина в ядрах клеток открытых участков кожи [4].

По мнению W. Tao [33], в нормальных клетках белка p53 содержится мало — на уровне чувствительности методов определения. Полупериод жизни этого протеина составляет приблизительно 5—20 мин, p53 постоянно обновляется путем синтеза. Другие авторы

подтверждают, что в физиологических условиях «дикий» тип (wt)p53, характеризующийся коротким периодом полураспада (не более 20 мин), содержится в клетках в очень низких концентрациях, которые обычно ниже чувствительности иммуногистохимических методов [5].

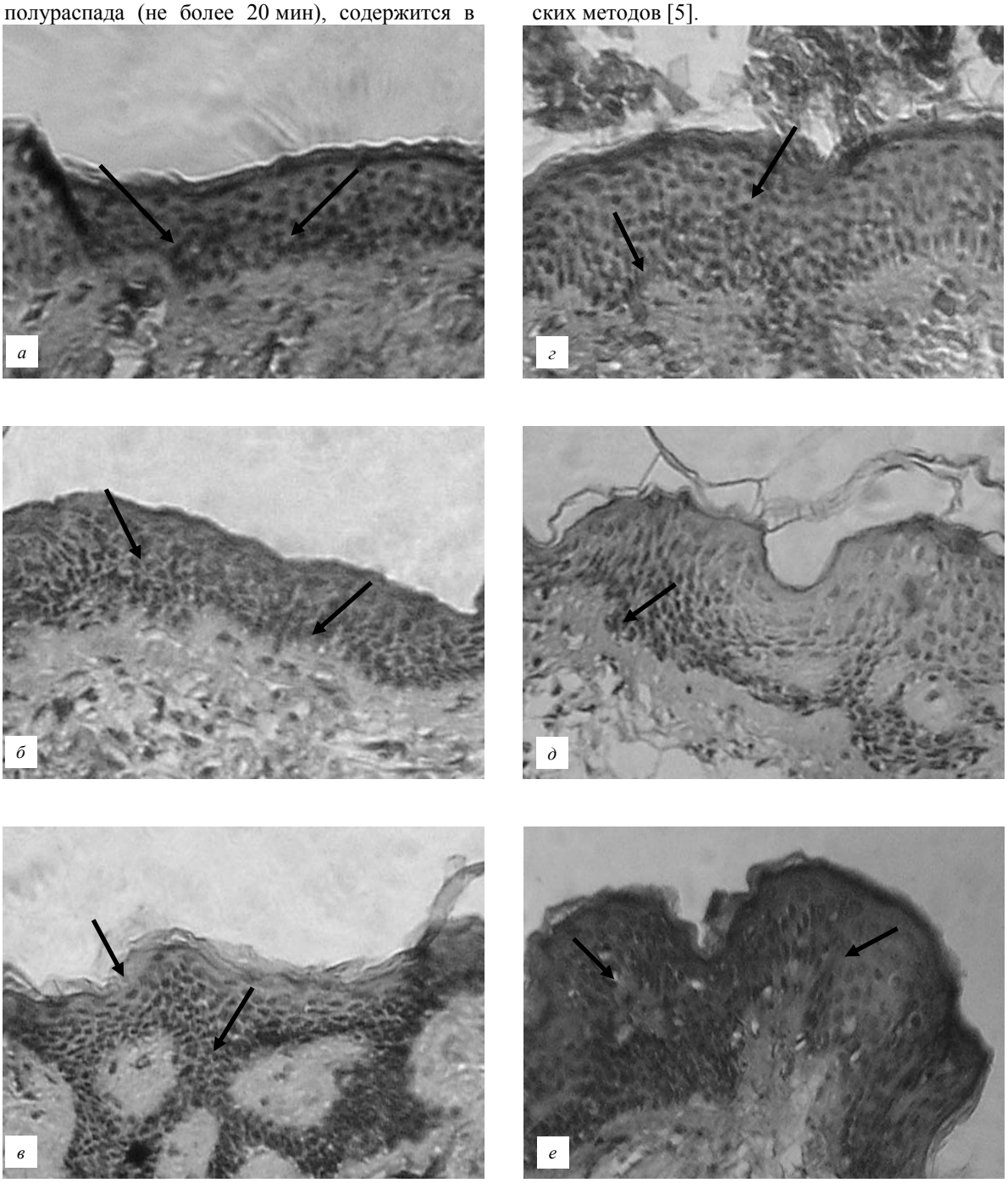

Рис. 1. Выраженность иммунопозитивной реакции к маркерам апоптоза кератиноцитами эпидермиса: *а* — выраженная иммунопозитивная реакция к протеину p53 в клетках эпидермиса (пациентка П., 60 лет). Препарат участка кожи височной области; *б* — выраженная иммунопозитивная реакция к протеину bax в клетках эпидермиса (пациентка С., 52 года). Препарат участка кожи, полученного из области верхних век; *в* — выраженная иммунопозитивная реакция к протеину bcl-2 в клетках эпидермиса (пациентка Г., 55 лет). Препарат участка кожи височной области; *г* — выраженная иммунопозитивная реакция к протеину p53 в клетках эпидермиса (пациентка С., 52 года). Препарат участка кожи, полученного

из области верхних век; *д* — слабо выраженная иммунопозитивная реакция к протеину bax в клетках эпидермиса (пациентка П., 44 года). Препарат участка кожи, полученного из области верхних век; *е* — отсутствие иммунопозитивной реакции к протеину bax в клетках эпидермиса (пациентка Н., 28 лет). Препарат участка кожи височной области. Стрелками указаны апоптозные (*а*—*д*) и нормальные (*е*) кератиноциты эпидермиса. Ув.: *а*, *б*, *г*, *е* — 250; *в*, *д* — 150

В данном исследовании обращал на себя внимание факт, что доля p53-иммунопозитивных кератиноцитов в препаратах кожи молодых пациенток составляла от 3,8 до 17,9% , а в препаратах кожи пациенток среднего и пожилого возраста указанный показатель варьировал от 63 до 90%. Эти результаты в целом не противоречат сведениям, полученным в других исследованиях. Так, имеются данные об обнаружении конституциональной экспрессии протеина p53 в эпидермисе человека с увеличением доли иммунопозитивных клеток по мере старения кожи [4]. Одни исследователи отмечали высокий уровень экспрессии этого протеина в эпидермисе в сезон активной инсоляции [14], другие — утверждали, что появление его реактивности отмечается только при повреждении кожи различными факторами, в том числе и при ультрафиолетовом воздействии [36].

При оценке средних значений содержания белка-ингибитора апоптоза bcl-2 и выраженности иммунопозитивной реакции в клетках эпидермиса у пациенток обеих групп статистически значимых различий обнаружено не было ((2,66 ± 2,66) и (16,64 ± 11,76)% соответственно, $p = 0,204$) (табл. 1, 3; рис. 1,*в*). При этом доля окрашенных клеток в препаратах кожи пациенток в возрасте 16—44 лет была не более 21,3%, а в препаратах кожи пациенток 45—64 лет — от 43 до 90%.

Таблица 3

Встречаемость иммунопозитивной реакции в клетках эпидермиса при выявлении маркера апоптоза bcl-2 у пациенток разных возрастных групп, абс. (%)

Возраст пациенток, лет	Интенсивность bcl-2			*p*
	–	+	+++	
16—44	7 (87,5)	1 (12,5)	0	0,99
45—64	6 (75,0)	1 (12,5)	1 (12,5)	

При оценке другими исследователями процесса экспрессии белка bcl-2 в коже установлено, что иммунопозитивная реакция кератиноцитов к антителам белка определяется чаще в цитоплазме клеток базального слоя эпидермиса. При этом отмечалось возрастание показателей оптической плотности данного маркера в эпидермисе пациентов различных возрастных групп при хронологическом и фотостарении. Описанные особенности экспрессии bcl-2 свидетельствуют о преимущественном повышении резистентности к проапоптотическим сигналам менее дифференцированных клеток эпидермиса [4]. Этими же авторами было отмечено усиление экспрессии белков-блокаторов апоптоза при фотостарении в эпидермисе и дерме. Вероятнее всего, протеин bcl-2, блокируя развитие апоптоза, может играть ключевую роль в выживании кератиноцитов с фотоиндуцированными повреждениями митохондриальной ДНК [25, 34].

При оценке средних значений содержания белка-индуктора апоптоза bax в клетках эпидермиса у пациенток 16—44 и 45—64 лет были выявлены статистически значимые различия содержания данного протеина в группах ((25,9 ± 14,38) и (78,75 ± 11,25)% соответственно, $p < 0,05$) (см. табл. 1). По показателю выраженности иммунопозитивной реакции между группами также были выявлены статистически достоверные различия ($p = 0,004$) (табл. 4, рис. 1,*б*,*д*,*е*). Доля окрашенных клеток в препаратах кожи пациенток 16—44 лет составила от 27,2 до 90%, а в препаратах кожи пациенток 45—64 лет — более 90%.

Таблица 4

Встречаемость иммунопозитивной реакции в клетках эпидермиса при выявлении маркера апоптоза bax у пациенток разных возрастных групп, абс. (%)

Возраст пациенток, лет	Интенсивность bax				*p*	$p_{пар}$
	–	+	++	+++		
16—44	5 (62,5)	1 (12,5)	0	2 (25,0)	0,004	$p_{(–)} = 0,039$ $p_{(+)} = –$
45—64	1 (12,5)	1 (12,5)	3 (37,5)	3 (37,5)		$p_{(++)} = 0,055$ $p_{(+++)} = 0,59$

По данным литературы, индуцирующее действие протеина bax на механизмы апоптоза клеток опосредовано путем открытия мембранных каналов митохондрий. В норме протеин bax находится в цитоплазме клеток: под действием апоптозного сигнала его молекулы мигрируют к мембранам митохондрий, где они образуют комплексы с интегральным белком наружной мембраны или белками bcl-2, bcl-x, открывая мембранные каналы [12, 31]. Этот факт является критическим событием апоптоза, так как при этом про-

исходит выход из митохондрий цитохрома С, инициирующего каскад апоптотических реакций [27]. Их конечной стадией являются конденсация хроматина и его межнуклеосомная фрагментация, изменение морфологии, а затем — фрагментация ядра. Далее происходит смещение органелл, возникновение апоптозных телец и разрушение клетки [1].

В целом проведенное исследование продемонстрировало, что ассоциирующиеся с хронологическим старением кожи изменения в системе регуляции апоптоза касаются увеличения уровня экспрессии протеинов p53 и bax клетками эпидермиса пациенток 45—64 лет. Учитывая, что феномен апоптоза является результатом действия множества факторов (окислительный стресс, УФ-излучение, ионизирующая радиация, гипоксия, действие химических препаратов, вирусная инфекция и др.), становится понятным, что по мере старения пациентов происходит накопление повреждающего действия факторов, вызывающих усиление проапоптотического сигнала.

Литература

1. *Жижина Г.П.* Роль апоптоза в нормальном онтогенезе, патогенезе и старении // Клинич. геронтология. 2002. № 4. С. 3—10.
2. *Иванова Е.* Келоидные и гипертрофические рубцы: вопросы патогенеза // Косметика и медицина. 2007. № 2. С. 4—11.
3. *Семкин В.И.* Морфофункциональные изменения эпидермальных дифферонов при старении // Клинич. геронтология. 2001. № 9. С. 27—31.
4. *Нейроиммуноэндокринология* кожи и молекулярные маркеры ее старения / И.О. Смирнова, И.М. Кветной, И.В. Князькин, С.И. Данилов. СПб.: Деан, 2005. 288 с.
5. *Руководство* по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. Казань, 2000. 278 с.
6. *Эллиниди В.Н., Аникеева Н.В., Максимова Н.А.* Практическая иммуногистохимия. СПб.: ВУЭРМ МЧС России, 2000. 36 с.
7. *Adams J.M., Cory S.* The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival // Science. 1998. V. 281. № 5381. P. 1322—1326.
8. *Balajee A.S., May A., Bohr V.A.* Fine structural analysis of DNA repair in mammalian cells // Mutat. Res. 1998. V. 404. № 1. P. 3—11.
9. *Blatt T., Mundt C., Mummert C. et al.* Modulation des oxidatives stresses inder humanen altershaut // Z. Gerontol. Geriatr. 1999. Bd. 32. № 2. S. 83—88.
10. *Bosset S., Bonnet-Duquennoy M., Barre P. et al.* Decreased expression of keratinocyte betal integrins in chronically sun-exposed skin *in vivo* // Br. J. Dermatol. 2003. V. 148. № 4. P. 770—778.
11. *Bowen A.R., Hanks A.N., Allen S.M. et al.* Apoptosis regulators and responses in human melanocytic and keratinocytic cells // J. Invest. Dermatol. 2003. V. 120. № 1. P. 48—55.
12. *Chao D.T., Korsmeyer S.J.* BCL-2 family: regulators of cell death // Ann. Rev. Immunol. 1998. № 16. P. 395—419.
13. *Chodon T., Sugihara T., Igava H.H. et al.* Keloid-derived fibroblasts are refractory to fas-mediatet apoptosis and neutralization of autocrine transforming growth factor-beta 1 can abrogate this rezistance // Am. J Pathol. 2000. V. 157. № 5. P. 1661—1669.
14. *El-Domiaty M., Attia S., Saleh F. et al.* Instrinic ageing vs pho-toaging: a comparative histopathological, immunohistochemical and ultrastractural study of skin // Exp. Dermatol. 2002. V. 11. № 5. P. 398—405.
15. *Engelke M., Jensen J.M., Ekanayake-Mudiyanselage S., Proksch E.* Effects of xerosis and ageing on epidermal proliferation and differentiation // Br. J. Dermatol. 1997. V. 137. № 2. P. 219—225.
16. *Fujiwara M., Muragaki Y., Ooshima A.* Upregulation of transforming growth factor-beta1 and vascular endothelial growth factor in cultured keloid fibroblasts: relevance to angiogenic activity // Arch. Dermatol. Res. 2005. V. 297. № 4. P. 161—169.
17. *Green D.R., Beere H.M.* Apoptosis. Gone but not forgotten // Nature. 2000. V. 405. № 6782. P. 28—29.
18. *Grewe M.* Chronological ageing and photoageing of dendritic cells // Clin. Exp. Dermatol. 2001. V. 26. № 7. P. 608—612.
19. *Harley C.B., Sherwood S.W.* Telomerase, checkpoints and cancer // Cancer Surv. 1997. № 29. P. 263—284.
20. *Hockenbery D.M., Zutter M., Hickey W. et al.* BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. № 16. P. 6961—6965.
21. *Jost M., Class R., Kari C. et al.* A central role of Bcl-X(L) in the regulation of keratinocyte survival by autocrine EGFR ligands // J. Invest. Dermatol. 1999. V. 112. № 4. P. 443—449.
22. *Krajewski S., Bodrug S., Krajewska A. et al.* Immunohistochemical analysis of mcl-1 protein and bcl-2 protein production suggest a unigue role for mcl-1 in control of programmed cell death *in vivo* // Am. J. Pathol. 1995. V. 146. № 6. P. 1309—1319.
23. Lane D.P. Worrying about p53 // Curr. Biol. 1992. V. 2. № 11. P. 581—583.
24. *Ling G., Person A., Berne B. et al.* Persistent p53 mutations in single cells from normal human skin // Am. J. Pathol. 2001. V. 159. № 4. P. 1247—1253.
25. *Lu Q.L., Abel P., Foster C.S., Lalani E.N.* Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis // Hum. Pathol. 1996. V. 27. № 2. P. 102—110.
26. *Nakagawa K., Yamamura K., Maeda S., Ichihashi.* Bcl-2 expression in epidermal keratinocytic diseases // Cancer. 1994. V. 74. № 6. P. 1720—1724.
27. *Nunez G., Benedict M.A., Hu Y., Inohara N.* Caspases: the proteases of the apoptotic pathway // Oncogene. 1998. V. 17. № 25. P. 3237—3245.
28. *Pincelli C., Hakke A.R., Bernassi L. et al.* Autocrine nerve growth factor protects human keratinocytes from apoptosis through its high affinity receptor (trk): a role for bcl-2 // J. Invest. Dermatol. 1997. V. 109. № 6. P. 757—764.
29. *Ponten F., Berne B., Ren Z.P. et al.* Ultraviolet light induces expression of p53 and p21 in human skin: effect of sunscreen

and constitutive p21 expression in skin appendages // J. Invest. Dermatol. 1995. V. 105. № 3. P. 402—406.
30. *Qin J.Z., Chaturvedi V., Denning M.F. et al.* Regulation of apoptosis by p53 in UV-irradiated human epidermis, psoriatic plaques and senescent keratinocytes // Oncogene. 2002. V. 21. № 19. P. 2991—3002.
31. *Reed J.C.* Bcl-2 family proteins // Oncogene. 1998. V. 17. № 25. P. 3225—3236.
32. *Stefanato C.M., Yaar M., Bhawan J. et al.* Modulations of nerve growth factor and Bcl-2 in ultraviolet-irradiated human epidermis // J. Cutan. Pathol. 2003. V. 30. № 6. P. 351—357.
33. *Tao W., Levine A.J.* Nucleocytoplasmic shuttling of oncoprotein Hdm2 is required for Hdm2-mediated degradation of p53 // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1999. V. 96. № 6. P. 30077—3080.
34. *Wang E.* Failure to undergo programmed cell death in senescent human fibroblasts in related to inability to down regulate bcl-2 presence // Cancer Res. 1995. № 55. P. 2284—2292.
35. *Wang Y., Rosenstein B., Goldwyn S. et al.* Differential regulation of P53 and Bcl-2 expression by ultraviolet A and B // Dermatol. 1998. V. 111. № 3. P. 380—384.
36. *Wassberg C., Backwall H., Diffey B. et al.* Enhanced epidermal ultraviolet responses in chronically sun-exposed skin are dependent on previous exposure // Acta. Derm. Veneorol. 2003. V. 83. № 4. P. 254—261.
37. *Yang J., Liu X., Bhalla L. et al.* Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome C from mitochondria blocked // Science. 1997. V. 275. № 5303. P. 1129—1132.
38. *Zhai S., Yaar M., Doyle S.M., Gilchrest B.A.* Nerve growth |factorrescues pigment cells from ultraviolet-induced apoptosis by up-regulating BCL-2 levels // Exp. Cell. Res. 1996. V. 1. № 2. P. 335—343.

Поступила в редакцию 26.02.2008 г.

Сведения об авторах

Т.Ю. Витрук — соискатель кафедры дерматовенерологии СибГМУ (г. Томск).

Н.В. Рязанцева — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальных основ клинической медицины, руководитель лаборатории молекулярной медицины СибГМУ (г. Томск).

П.Н. Пестерев — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой дерматовенерологии СибГМУ (г. Томск).

Л.Р. Мустафина — канд. мед. наук, врач-патологоанатом клиник СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Татьяна Юрьевна Витрук, тел.: (3822) 53-22-32; 8-913-827-56-03. vitruk@mail.ru