

Б.А. Умбаев, А. Масуд, Д.С. Алимбетов, Ю. Гутова, А.К. Цой, Ю.И. Сафарова,
Ф.С. Олжаев, А.А. Ермакова, Ш.Н. Аскарлова
National laboratory Astana, Назарбаев Университет, г. Нур-Султан, Казахстан

ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ p38MAPK (SB203580) И MAPKAPK2 (MK2.III) НА СОСТОЯНИЕ КОЖИ МЫШЕЙ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ВВЕДЕНИЕМ D-ГАЛАКТОЗЫ СТАРЕНИИ

Известно, что стареющие клетки накапливаются с возрастом и секретируют ряд матричных металлопротеиназ (ММП) и воспалительных цитокинов и хемокинов которые называется секреторным фенотипом, связанным со старением (The Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP)), что способствует нарушению микросреды кожи. В ходе предыдущих *in vitro* исследований нами было показано, что регулятором SASP могут быть сигнальные пути, связанные с киназой p38MAPK и ее эффектором MAPKAPK2. В данном исследовании мы оценивали возможность регулирования SASP с помощью ингибиторов p38MAPK (SB203580) и MAPKAPK2 (MK2.III) на модели старения кожи мышей, индуцированной хроническим введением D-галактозы. В результате проведенных исследований было показано, что хроническое введение D-галактозы лабораторным мышам приводит к развитию старения кожи, что проявляется в снижении толщины кожи, содержания влаги и коллагена в коже и развитию окислительного стресса: повышение содержания МДА, снижение активности СОД и каталазы. Кроме того, после воздействия D-галактозой наблюдалось увеличение концентрации компонентов SASP (ИЛ-1 β , 6, и 10, и ФНО альфа). В то же самое время, воздействие на животных ингибиторами p38MAPK и MAPKAPK2 в течение 1 месяца приводило к улучшению структурно-функциональных показателей кожи, предварительно состаренной с помощью D-галактозы. Было обнаружено, что воздействие ингибиторами SB203580 и MK2: MK2.III приводило к повышению толщины, содержания влаги и коллагена в коже и снижению окислительного стресса по сравнению с животными, получавшими только D-галактозу. Позитивные изменения в коже животных, получавших ингибиторы p38MAPK и MK2, были ассоциированы со снижением компонентов SASP (ИЛ-1 β , 6, и 10, и ФНО альфа).

Ключевые слова: старение, SASP, кожа, p38MAPK, MAPKAPK2, D-галактоза

Введение

Старение кожи представляет собой сложный биологический процесс, на который влияет сочетание ряда эндогенных и экзогенных факторов [1, 2]. Синергетический эффект этих факторов приводит к кумулятивным структурным и физиологическим изменениям в каждом слое кожи, а также изменениям внешнего вида кожи, особенно на участках, подверженных воздействию ультрафиолетового излучения, и носят прогрессивный характер [3, 4]. Соответственно, выделяют два типа старения кожи: биологическое или хронологическое старение и внешнее старение [5]. Особый интерес вызывает возможность регуляции биологического старения. Тем не менее, механизмы, лежащие в основе биологического старения кожи, изучены в недостаточной степени [6]. Известно, что стареющие клетки накапливаются с возрастом и способствуют нарушению микросреды кожи [7-11]. В течение последних лет были получены данные, подтверждающие тот факт, что стареющие клетки секретируют ряд матричных металлопротеиназ (ММП), воспалительных цитокинов и хемокинов, которые могут изменять структуру окружающих тканей и вызывать местное воспаление [12, 13]. Данный феномен был назван секреторным фенотипом, связанным со старением (The Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP)) [12, 14-17]. Lawless et al. разработала эмпирическую ступенчатую модель репликативного старения, где показала, что одним из следствий SASP является увеличение генерации митохондриальных АФК в стареющих клетках [18]. Кроме того, было показано, что продолжающееся формирование SASP в стареющих клетках способствует старению здоровых фибробластов через процессы влияющие на продукцию АФК [19].

SASP зависит от активации внутриклеточных сигнальных путей, таких как сигнальный путь p38 (p38 митоген-активированная протеинкиназа) / NF- κ B (ядерный фактор- κ B) [20]. Так как было показано, что ингибирование сигнального пути p38 является мощным репрессором SASP в условиях *in vitro*, и предполагается, что малые молекулы ингибиторы p38 путей могут также послужить эффективными SASP-супрессорами в условиях *in vivo* [20]. Ранее мы показали, что наряду с сигнальным путем p38 MAPK, ингибирование SASP происходит за счет MAPKAPK2 (MK2) киназы в человеческих фибробластах, полученных от пожилых доноров [21]. Эти исследования подтверждают возможность эффективной регуляции SASP в клетках кожи с помощью малых молекул - ингибиторов p38 и MK2. В качестве животной модели старения кожи при проведении исследований по антивозрастной фармакологии широко используется хроническое введение низкой дозы D-галактозы (D-Gal) [22]. При хроническом введении низкой дозы D-Gal у лабораторных животных, таких как крысы и мыши, наблюдается снижение толщины кожи и уровня влаги [22]. Интоксикация D-Gal также приводит к уменьшению содержания коллагена и эластина в коже [22]. Было показано, что в коже животных, которые подвергались воздействию D-Gal, наблюдается активация окислительного стресса и снижение уровня антиоксидантов [22]. В ряде исследований было показано, что воздействие D-Gal приводит к активации p38 [23-26], вызванное окислительным повреждением. Было показано, что однократное воздействие p38 MAPK в коже при повреждении ДНК может снизить развитие воспалительных реакций и уменьшить повреждение кожи [27]. В этой связи, в настоящем исследовании мы оценивали возможность регулирования SASP с помощью ингибиторов p38MAPK (SB203580) и MAPKAPK2 (MK2.III) на модели старения кожи мышей, индуцированной хроническим введением D-галактозы.

Материалы и методы

Малые молекулы. При проведении исследования были использованы малые молекулы SB 203580, CAS 152121-47-6, 4- (4-фторофенил) -2- (4-метилсульфинилфенил) -5- (4-пиридил) -1H-имидазол (Sigma-Aldrich) (рисунок 1) и MK-2.III,

CAS 1186648-22-5, 1,5,6,7-тетрагидро-2- [2- (3-хиолинил) -4-пиридинил] -4Н-пирроло [3,2-с] пиридин-4-один (Calbiochem) (рисунок 2).

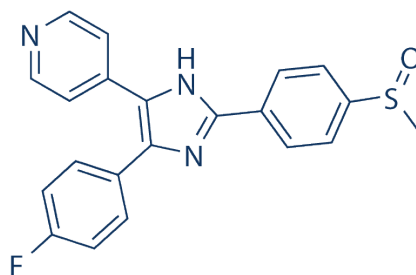


Рисунок 1- SB 203580

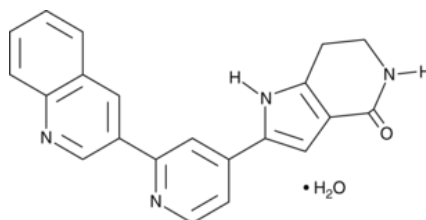


Рисунок 2 - МК-2.III

Эксперименты на животных и модель воздействия

В экспериментах были использованы лабораторные мыши, полученные из питомника лабораторных животных SPF-категории Казахского научного центра карантинных зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева (КНЦКЗИ). Мыши линии CD-1 были случайным образом разделены на 5 групп (n=10 в каждой). В первой группе были животные, которые не подвергались никакому воздействию (интактные животные), во второй группе мышам из контрольной группы вводили подкожно PBS, остальным 3 группам вводили тот же объем D-галактозы (1000 мг/кг) один раз в день в течение 8 недель. После 8 недель воздействия, две группы мышей получали подкожно в течение 4 недель (3 раза/неделю) инъекции ингибитора p38 - SB203580 (1 мг/кг) или ингибитора MK2 - MK2.III (2 мг/кг).

Все экспериментальные работы с животными были выполнены в соответствии с этическими стандартами по биомедицинской этике. Протоколы исследований получили одобрение локального этического комитета (N20 от 22 сентября 2017 года) Institutional Animal Care and Use Committee (Институциональный комитет по уходу за животными и их использованию).

После завершения экспериментов животные были умерщвлены с использованием изофлуранового наркоза. Предварительно у животных выщипывали шерсть с помощью депилятора. У животных в состоянии наркоза вырезалась кожа из дорсальной и вентральной областей. Полученные образцы кожи делились на несколько частей. Часть образцов сразу же погружалась в жидкий азот и переносилась в холодильный шкаф на температуру -80°C. Часть свежих образцов была использована для определения уровня влаги в коже. Другая часть образцов была зафиксирована в формалине.

Гистологический анализ

Для проведения гистологического анализа образцы кожи были зафиксированы в 10% формалине. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм изготавливались по общепринятой методике. Гистологические срезы, после обработки в ксилоле и спиртах, окрашивали гематоксилин – эозином и трихромом по Массону. Срезы изучали и фотографировали при помощи микроскопа ZeissAxioImager Z2, оснащенного камерой AxioCamMRc 5. Толщину эпидермиса и дермы измеряли с помощью программы ImageJ.

Количественная оценка содержания коллагена

Из каждого образца кожи были получены цветные изображения с разрешением 640x480 пикселей при помощи микроскопа ZeissAxioImager Z2, оснащенного камерой AxioCamMRc 5. Полученные изображения обрабатывались с помощью программы анализа изображений (ImageJ, NIH). Площадь поверхности коллагеновых волокон была определена количественно с помощью красно-сине-зеленой "цветовой гистограммы RGB и режима измерения.

Определения уровня влаги в коже

Показатель содержания влаги является стандартным при проведении экспериментов на коже. Уровень влаги в коже падает при естественном старении и при искусственном ускорении старения. Для определения уровня влаги в образцах кожи был использован метод высушивания образцов. От каждого животного получали образцы кожи весом в 100 мг. Свежие образцы кожи были взвешены на аналитических весах. После взвешивания образцы были высушены в сухожировом шкафу при 80°C в течение 12 часов. После высушивания было проведено взвешивание сухой массы образцов. Содержание воды в коже была рассчитана по формуле: процент содержания воды = [(влажный вес - сухой вес) / влажный вес] × 100%.

Определение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ)

Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по накоплению продукта перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот - малонового диальдегида (МДА) в коже мышей. Уровень МДА определяли с помощью набора Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit (Sigma-Aldrich) согласно инструкции производителя.

Определение активности каталазы

Активность каталазы определяли с использованием набора реактивов для спектрофотометрического определения фермента каталазы (Catalase Assay Kit) по инструкции производителя.

Определение активности супероксиддисмутазы

Активность супероксиддисмутазы определяли с использованием набора реактивов для спектрофотометрического определения фермента супероксиддисмутазы (SOD assay kit, Sigma-Aldrich) по инструкции производителя.

Иммуноферментный анализ содержания цитокинов: ФНО- α , ИЛ-1 β , 6, 10

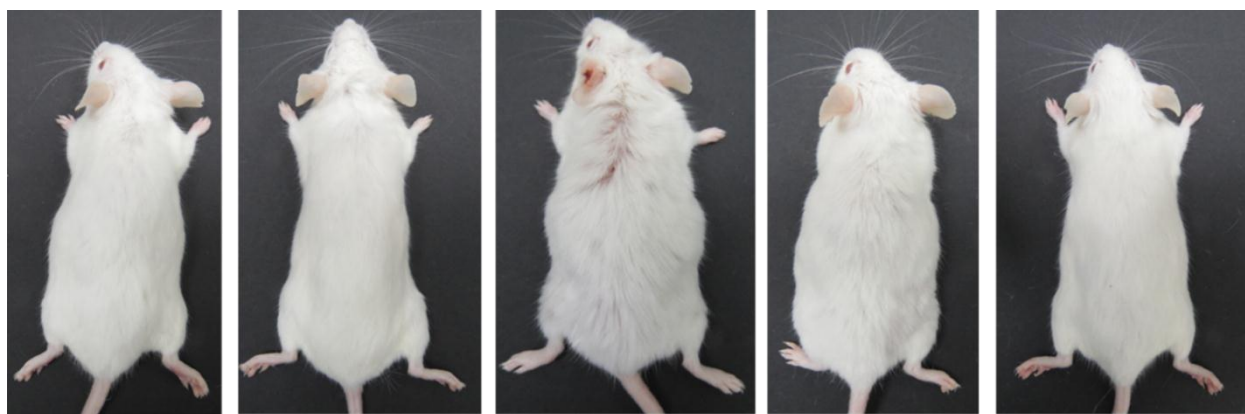
Содержание фактора некроза опухоли α (ФНО- α), интерлейкинов 1,6,10 (ИЛ-1,6,10) в образцах измерялось с помощью наборов для количественного определения ФНО- α , ИЛ-1,6,10 (Sigma-Aldrich).

Статистический анализ

Полученные данные были представлены в виде средней \pm стандартная погрешность средней величины (Mean \pm SEM). Стандартные отклонения между экспериментальными группами оценивались с помощью t-критерия Стьюдента. Значения считались достоверно различными при $p < 0.05$. Анализ проводился с использованием статистической программы SigmaPlot.

Результаты исследований

Внешний вид животных. В результате проведенных исследований было показано, что у животных, которые получали раствор D-галактозы, было отмечено заметное изменение внешнего вида: шерсть стала тусклой и наблюдалось ее выпадение. У группы животных, получавших ингибитор p38 и MK2.3, изменение внешнего вида не было столь выраженным (рисунок 3).



Интактный контроль

PBS

D-Galactose

D-Galactose
+ SB230580

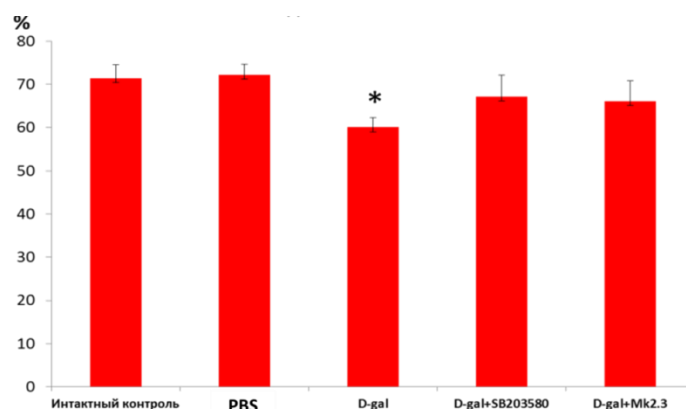
D-Galactose
+ MK2.3

Рисунок 3 - Внешний вид контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Результаты определения уровня содержания влаги в коже

Результаты определения уровня содержания влаги в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей приведены на рисунке 4.

Было показано, что содержание влаги в образцах кожи контрольных животных равняется 70%. Данный показатель согласуется с данными, полученными другими исследователями [22]. Статистически достоверное снижение на 16% ($p < 0.05$) наблюдалось в группе, которые получали только D-галактозу.

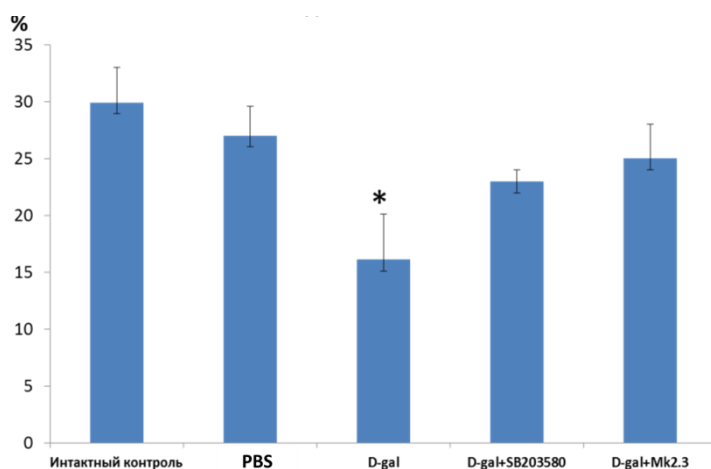


* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 4 - Уровень содержания влаги в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Результаты анализа содержания коллагена в коже

Результаты анализа по содержанию коллагена в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей приведены на рисунке 5. На рисунке видно, что в коже у животных с индуцированным старением наблюдалось статистически значимое снижение уровня коллагена в коже на 40% по сравнению с интактным контролем, тогда как в группах с ингибиторами SASP содержание коллагена снижалось примерно на 20%, но оно не было статистически достоверным.



* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 5 - Уровень содержания коллагена в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Результаты гистологического анализа и измерения толщины кожи

Результаты гистологического анализа приведены на рисунке 6.

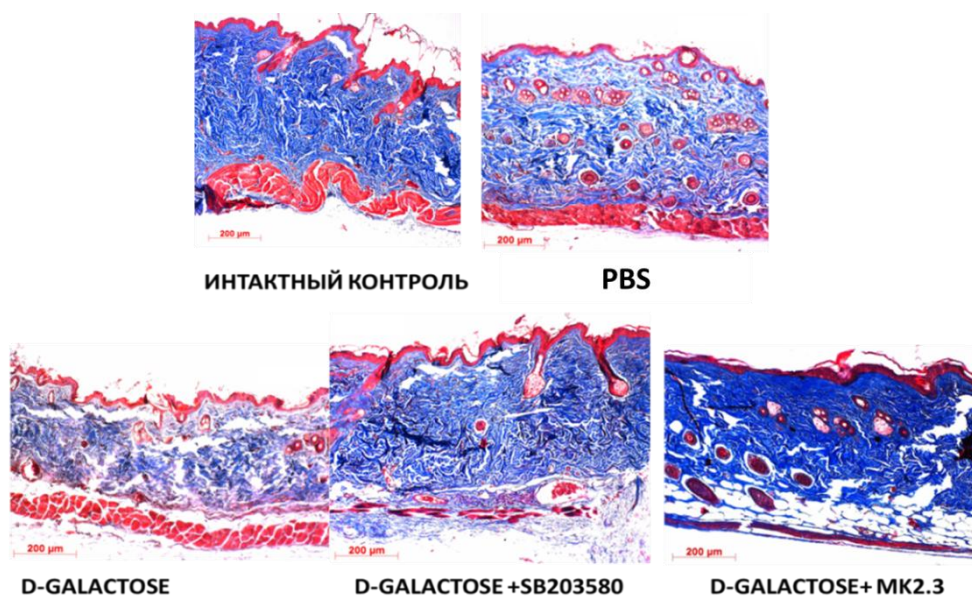
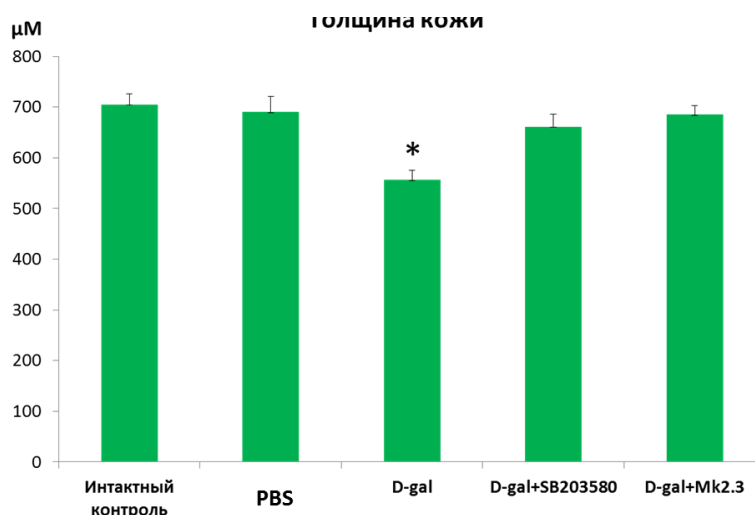


Рисунок 6 – Гистология кожи контрольных групп, с индуцированным старением, и мышей, получавших ингибиторы SB203580 и MK2.3

Примечание: Репрезентативные изображения срезов, окрашенных трихромом Массона, представлены при небольшом увеличении (10x, масштабная шкала = 200 мкм)

Гистологический анализ не выявил патологий в коже контрольных животных: ткань кожи на всем протяжении была равномерной толщины; эпидермис представлен многослойным плоским ороговевающим эпителием, а роговой слой роговыми массами, с единичными кератиновыми кистами; в дерме были видны многочисленные волосные фолликулы; гиподерма была представлена жировой тканью. Полученные результаты свидетельствовали о том, что контрольная группа не имела признаков старения в коже. В то же самое время, в коже животных с индуцированным старением наблюдались заметные гистологические изменения кожи, характеризующееся более тонким эпидермисом, уменьшением площади контакта дермы и эпидермиса и снижением уровня коллагена, тогда как в группах с ингибиторами SASP патологические изменения были не так выражены.

Результаты измерения толщины кожи представлены на рисунке 7. На приведенном рисунке видно, что в коже у животных с индуцированным старением наблюдалось статистически значимое снижение толщины кожи на 22% по сравнению с интактным контролем, тогда как в группах с ингибиторами SASP толщина кожи не снижалась.

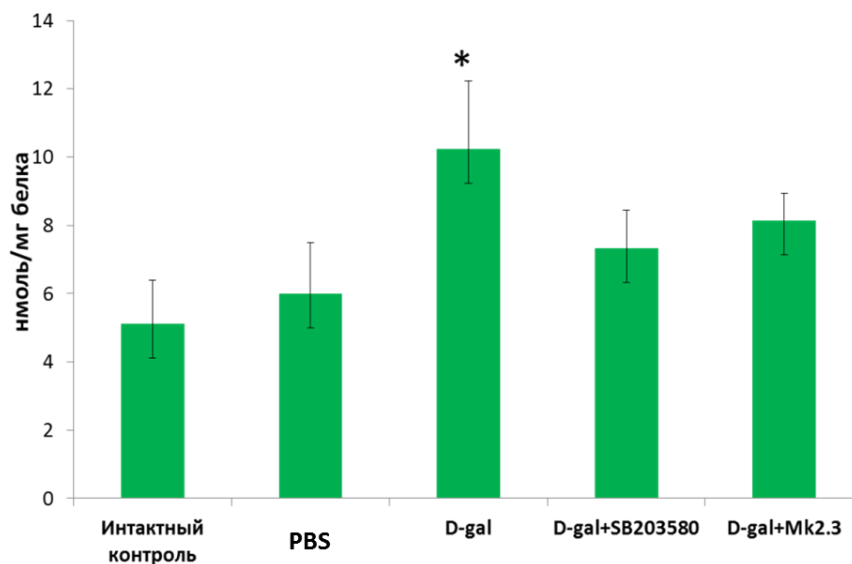


* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 7 - Толщина кожи контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Результаты определения содержания малонового диальдегида

Результаты определения содержания малонового диальдегида контрольных и экспериментальных лабораторных мышей приведены на рисунке 8.



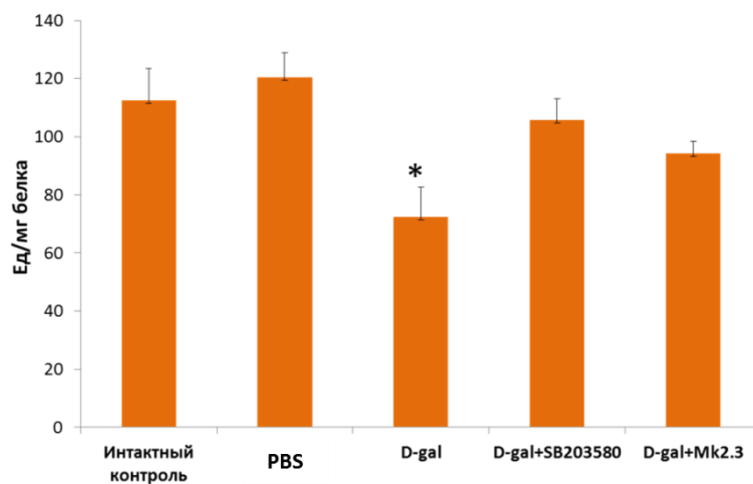
* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 8 – Содержание МДА в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Приведенные результаты свидетельствуют о развитии перекисного окисления липидов в коже животных с индуцированным старением, о чем свидетельствует статистически значимое двукратное повышение уровня МДА по сравнению с интактным контролем. В то же самое время, в группах с ингибиторами SASP уровень МДА был повышен только на 40%, и это повышение не было статистически достоверно.

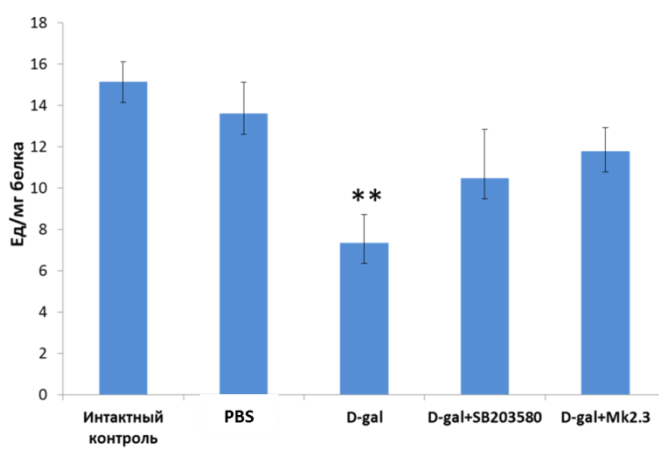
Результаты определения активности каталазы и СОД

Результаты определения активности антиоксидантных ферментов приведены на рисунках 9-10. Полученные результаты демонстрируют, что воздействие D-галактозы приводит к снижению активности антиоксидантных ферментов: СОД на 36 % и каталазы на 30% по сравнению с интактным контролем. Это согласуется с литературными данными, где отмечено снижение активности данных ферментов [22]. В группах животных, которые получали ингибиторы SASP, наблюдалась более высокая активность данных ферментов.



* $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 9 – Активность СОД в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

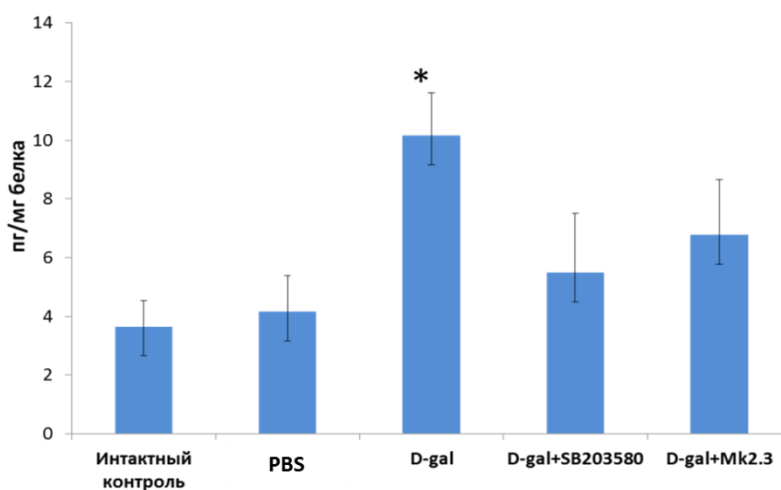


** $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 10 – Активность СОД в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

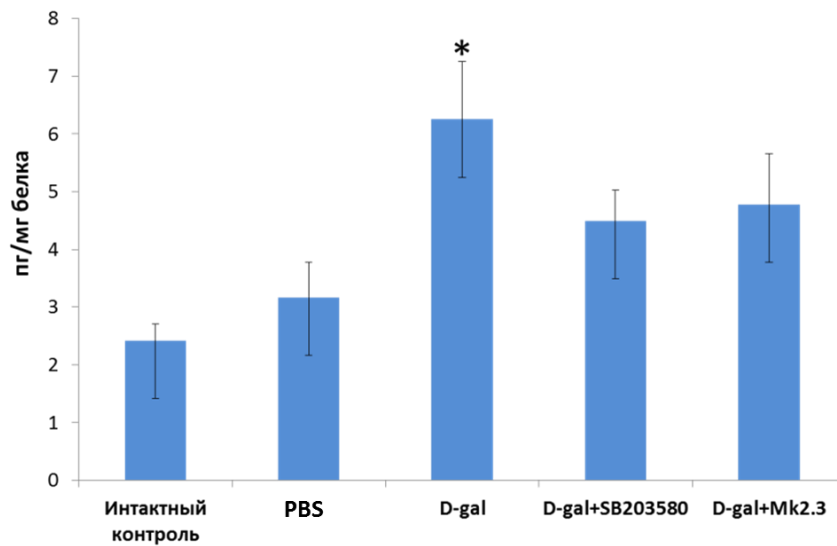
Результаты определения компонентов SASP

Результаты определения содержания в коже компонентов SASP приведены в рисунках 11-14.



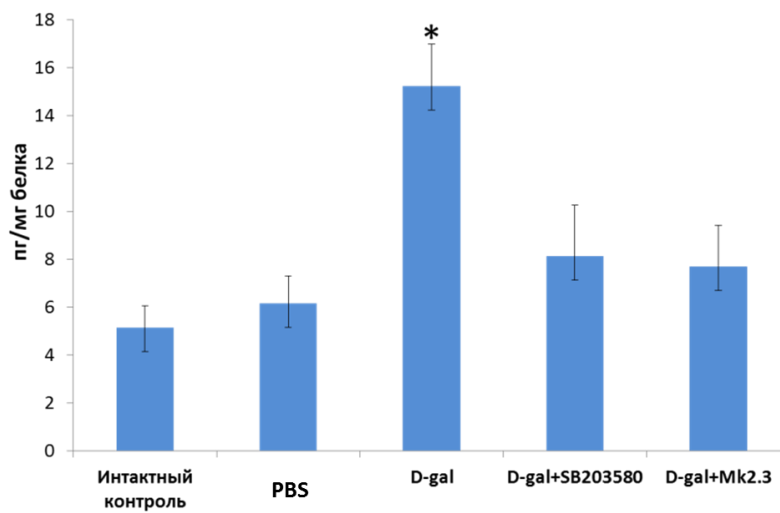
* $p \leq 0,05$ по сравнению с интактным контролем

Рисунок 11 – Уровень ФНО-альфа в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей



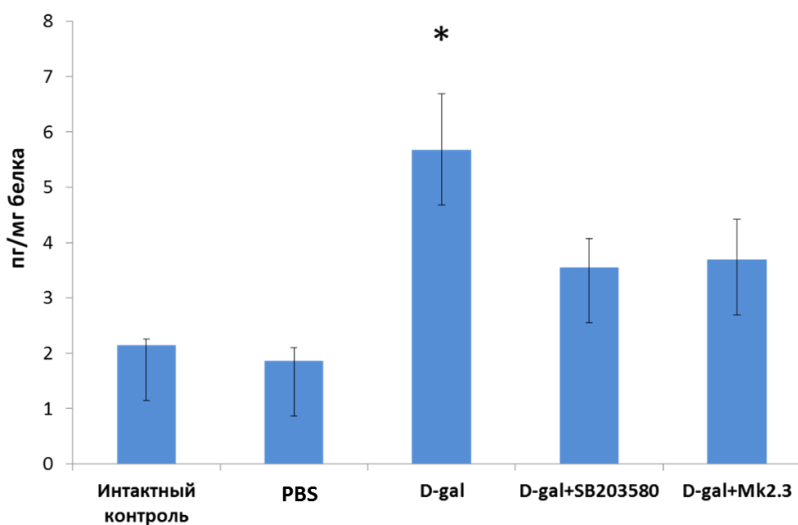
* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем)

Рисунок 12 – Уровень ИЛ-10 в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей



* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем)

Рисунок 13 – Уровень ИЛ-6 в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей



* $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем)

Рисунок 14 – Уровень ИЛ-1b в коже контрольных и экспериментальных лабораторных мышей

Было обнаружено, что стареющая кожа животных, у которых индуцировали старение с помощью D-галактозы, демонстрирует измененный профиль секретомы, называемый секреторным фенотипом, ассоциированным со старением (SASP). Это включает в себя повышение экспрессии цитокинов (ФНО альфа в 1,5 раза, ИЛ-6 в 1,6 раза, ИЛ-1b в 1,65 раза и 1,8 раза) по сравнению с интактным контролем, тогда как воздействие ингибиторами SASP приводило к показателям, приближенным к контролю.

Заключение

Полученные результаты демонстрируют, что воздействие на животных D-галактозой приводит к значительным изменениям основных биомаркеров старения кожи, таких как снижение толщины и содержания влаги и коллагена в коже и развитию окислительного стресса, повышению содержания МДА, снижению активности СОД и каталазы. Кроме того было, полученные данные свидетельствуют о том, что при использовании данной модели старения происходит увеличение концентрации компонентов SASP (ИЛ-1,6, и 10, и ФНО альфа) по сравнению с контролем. В то же самое время, одновременное воздействие ингибиторами p38 и MK2 в течение 4 недель приводит к нормализации состояния кожи и активации ее регенераторного потенциала. Можно предположить, что ингибирование p38 и MK2 способно супрессировать формирование секреторного фенотипа, связанного со старением через регуляцию окислительного стресса и, как следствие, восстанавливать тканевой гомеостаз. Результаты, полученные в настоящем исследовании, согласуются с данными, встречающимся в литературе, и подтверждают нашу гипотезу о возможности улучшения состояния кожи при старении с помощью ингибирования p38 и MK2 и регуляции SASP.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Tobin DJ. Introduction to skin aging // *Journal of Tissue Viability*. – 2017. - №26. – P. 37-46.
- 2 Dunn JH, Koo J. Psychological Stress and skin aging: A review of possible mechanisms and potential therapies // *Dermatology Online Journal*. – 2013. - №19. – P. 102-108.
- 3 Fisher GJ, Varani J, Voorhees JJ. Looking older: fibroblast collapse and therapeutic implications // *Arch Dermatol*. – 2008. - №144. – P. 666-672.
- 4 Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review // *Int J Cosmet Sci*. – 2008. - №30. – P. 87-95.
- 5 Baumann L. Skin ageing and its treatment // *J Pathol*. – 2007. - №211. – P. 241-251.
- 6 Gagnani A, Cornick SM, Chominski Vn, Noronha SMRd, Noronha SAACad, Ferreira LM. Review of Major Theories of Skin Aging // *Advances in Aging Research*. – 2014. - Vol.3, №4. – P. 20-28.
- 7 Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors // *Cell*. – 2005. - №120. – P. 513-522.
- 8 Jeyapalan JC, Ferreira M, Sedivy JM, Herbig U. Accumulation of Senescent Cells in Mitotic Tissue of Aging Primates // *Mechanisms of Ageing and Development*. – 2007. - №128. – P. 36-44.
- 9 Childs BG, Durik M, Baker DJ, van Deursen JM. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy // *Nature medicine*. – 2015. - №21. – P. 1424-1435.
- 10 Ressler S, Bartkova J, Niederegger H, Bartek J, Scharffetter-Kochanek K, Jansen-Durr P, et al. p16INK4A is a robust in vivo biomarker of cellular aging in human skin // *Aging Cell*. – 2006. - №5. – P. 379-389.
- 11 Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1995. - №92. – P. 9363-9367.
- 12 Ritschka B, Storer M, Mas A, Heinzmann F, Ortells MC, Morton JP, et al. The senescence-associated secretory phenotype induces cellular plasticity and tissue regeneration // *Genes Dev*. – 2017. - №31. – P. 172-183.
- 13 Demaria M, Desprez PY, Campisi J, Velarde MC. Cell Autonomous and Non-autonomous Effects of Senescent Cells in the Skin // *The Journal of investigative dermatology*. – 2015. - №135. – P. 1722-1726.
- 14 Coppé J-P, Desprez P-Y, Krtolica A, Campisi J. The Senescence-Associated Secretory Phenotype: The Dark Side of Tumor Suppression // *Annual review of pathology*. – 2010. - №5. – P. 99-118.
- 15 Waldera Lupa DM, Kalfalah F, Safferling K, Boukamp P, Poschmann G, Volpi E, et al. Characterization of Skin Aging-Associated Secreted Proteins (SAASP) Produced by Dermal Fibroblasts Isolated from Intrinsically Aged Human Skin // *J Invest Dermatol*. – 2015. - №135. – P. 1954-1968.
- 16 Byun HO, Lee YK, Kim JM, Yoon G. From cell senescence to age-related diseases: differential mechanisms of action of senescence-associated secretory phenotypes // *BMB Rep*. – 2015. - №48. – P. 549-558.
- 17 Ghosh K, Capell BC. The Senescence-Associated Secretory Phenotype: Critical Effector in Skin Cancer and Aging // *The Journal of investigative dermatology*. – 2016. - №136. – P. 2133-2139.
- 18 Lawless C, Jurk D, Gillespie CS, Shanley D, Saretzki G, von Zglinicki T, et al. A stochastic step model of replicative senescence explains ROS production rate in ageing cell populations // *PLOS ONE*. – 2012. - №7. – P. 32117-32117.
- 19 Nelson G, Wordworth J, Wang C, Jurk D, Lawless C, Martin-Ruiz C, et al. A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence // *Aging cell*. – 2012. - №11. – P. 345-349.
- 20 Freund A, Patil CK, Campisi J. p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype // *The EMBO Journal*. – 2011. - №30. – P. 1536-1548.
- 21 Alimbetov D, Davis T, Brook AJC, Cox LS, Faragher RGA, Nurgozhin T, et al. Suppression of the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in human fibroblasts using small molecule inhibitors of p38 MAP kinase and MK2 // *Biogerontology*. – 2016. - №17. – P. 305-315.
- 22 Umbayev B, Askarova S, Almabayeva A, Saliev T, Masoud A-R, Bulanin D. Galactose-Induced Skin Aging: The Role of Oxidative Stress // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. - №20. – P. 1-15.
- 23 Gao J, Yu Z, Jing S, Jiang W, Liu C, Yu C, et al. Protective effect of Anwulignan against D-galactose-induced hepatic injury through activating p38 MAPK-Nrf2-HO-1 pathway in mice // *Clinical interventions in aging*. – 2018. - №13. – P. 1859-1869.
- 24 Xu Y, Zhang J, Liu J, Li S, Li C, Wang W, et al. Luteolin attenuate the d-galactose-induced renal damage by attenuation of oxidative stress and inflammation // *Natural Product Research*. – 2015. - №29. – P. 1078-1082.

- 25 Yu Z, Jing S, Gao J, Liu C, Li N, Yu C, et al. Anwulignan Improves d-Galactose-Induced Learning and Memory Impairment via Regulating P38 MAPK-Nrf2-HO-1 Pathway in Mice // *Natural Product Communications*. – 2019. - №14. – P. 193-199.
- 26 Wang J, Zhang T, Liu X, Fan H, Wei C. Aqueous extracts of se-enriched *Auricularia auricular* attenuates D-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress and neuroinflammation via suppressing RAGE/MAPK/NF- κ B pathway // *Neuroscience Letters*. – 2019. - №704. – P. 106-111.
- 27 Kim AL, Labasi JM, Zhu Y, Tang X, McClure K, Gabel CA, et al. Role of p38 MAPK in UVB-Induced Inflammatory Responses in the Skin of SKH-1 Hairless Mice // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2005. - №124. – P. 1318-1325.

**Б.А. Умбаев, А. Масуд, Д.С. Алимбетов, Ю. Гүтова, А.К. Цой, Ю.И. Сафарова,
Ф.С. Олжаев, А.А. Ермакова, Ш.Н. Аскарова**
National laboratory Astana, Назарбаев Университеті, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

D-ГАЛАКТОЗА АРҚЫЛЫ ИНДУКЦИЯЛАНҒАН ҚАРТАЮ КЕЗІНДЕГІ ТЫШҚАНДАРДЫҢ ТЕРІСІНЕ P38MAPK (SB203580) ЖӘНЕ MAPKAPK2 (MK2.III) ИНГИБИТОРЛАРЫНЫҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

Түйін: Қартайған жасушалар жасына қарай жинақталып, терінің микроортасын бұзуға ықпал етіп, бірқатар матрицалық металлопротеиназалар (ММП) мен қартаюға байланысты секреторлық фенотип (SASP) деп аталатын қабыну цитокиндері мен хемокиндерін бөлетіні белгілі. Алдыңғы *in vitro* зерттеулер барысында біз p38MAPK киназасымен және оның MAPKAPK2 эффекторымен байланысты сигналдық жолдарының SASP-ны реттей алатынын көрсеттік. Бұл зерттеуде біз D-галактозаның созылмалы енгізілуімен туындаған тышқан терісінің қартаю моделіндегі p38MAPK (SB203580) және MAPKAPK2 (MK2.III) ингибиторларымен SASP реттелу мүмкіндігін бағаладық. Зерттеулер нәтижесінде D-галактозаны зертханалық тышқандарға созылмалы енгізу терінің қартаюына әкелетіні, терінің қалыңдығының, терінің ылғалдылығы мен коллаген құрамының төмендеуінде және тотығу стрессінің дамуында болатындығы көрсетілген: MDA құрамының жоғарылауы, SOD және каталаз белсенділігінің төмендеуі. Сонымен қатар, экспозициядан кейін SASP компоненттерінің (IL-1b, 6, 10 және TNF-альфа) концентрациясының жоғарылауы байқалды. D-галактоза, SB203580 және MK2.III ингибиторларының әсерінен D-галактозаны алатын жануарлармен салыстырғанда терінің қалыңдығы, ылғалдылығы және коллаген құрамы жоғарылап, тотығу стрессі төмендегені анықталды. p38MAPK және MAPKAPK2 ингибиторларын алған жануарлардың терісіндегі оң өзгерістер SASP компоненттерінің төмендеуімен байланысты болды (IL-1b, 6, and 10 және TNF альфа).

Түйінді сөздер: қартаю, SASP, тері, p38MAPK, MAPKAPK2, D-галактоза

**B. Umbayev, A. Masoud, D. Alimbetov, Y. Gutova, A. Tsoy, Y. Safarova,
F. Olzhayev, A. Yermekova, Sh. Askarova**
National laboratory Astana, Nazarbayev University, Nur-Sultan, Kazakhstan

EFFECT OF THE INHIBITORS P38MAPK (SB203580) AND MAPKAPK2 (MK2.III) ON MOUSE SKIN IN D-GALACTOSE INDUCED AGING

Resume: Senescent cells accumulate with age and facilitate the disruption of skin microenvironment by secreting a number of matrix metalloproteases (MMPs) and inflammatory cytokines and chemokines known as Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP). In the course of previous *in vitro* studies we have shown that signaling pathways associated with the p28MAPK kinase and its effector MAPKAPK2 can regulate SASP. In the present study we have evaluated whether inhibitors p38MAPK (SB203580) and MAPKAPK2 (MK2.III) could affect SASP in mouse model of skin aging induced by chronic administration of D-galactose. According to the obtained results chronic administration of D-galactose leads to progression of skin aging in laboratory mice, which was manifested by decrease in skin thickness, moisture and collagen content together with emerging of oxidative stress characterized by increased level of MDA and reduced activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase. In addition, the concentration of SASP components (IL-1b, 6 and 10, and TNF alpha) was upregulated. Exposure to the inhibitors p38MAPK and MAPKAPK2 for 1 month improved the skin thickness, moisture and collagen content, reduced oxidative stress compared to the animals in control group. Progressive changes in the skin of animals that were exposed to inhibitors p28MAPK and MK2 were associated with the decrease in SASP components (IL-1b, 6 and 10, and TNF alpha).

Keywords: Aging, SASP, skin, p38MAPK, MAPKAPK2, D-galactose

Финансирование:

Работа поддержана грантом AP05133475 «Разработка анти-SASP терапии для профилактики онкологических заболеваний и активации регенераторного потенциала кожи при старении», Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, 2018-2020 гг.