

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 619:612.821.014:612.018.2]:303.447.3  
doi:10.18499/2225-7357-2022-11-3-57-64  
1.5.22 – клеточная биология



## Экспрессия 5-НТ1А рецепторов в общем покрове крыс при темновой депривации

И. С. Соболевская<sup>✉</sup>, М. И. Краснобаева, О. Д. Мяделец

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

**Аннотация.** Цель исследования – изучить динамику экспрессии рецептора серотонина 5-НТ1А в коже белых крыс-самцов при темновой депривации.

**Материал и методы.** В экспериментах были использованы 20 белых беспородных крыс-самцов с массой тела 170–220 г. Подопытные животные были разделены на две группы. В интактную группу входили животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного освещения (12 ч свет / 12 ч темнота). Экспериментальную группу составляли животные с моделированием темновой депривации в условиях круглосуточного освещения (24 ч свет). Продолжительность исследования составила 21 сутки. Объектом исследования служила кожа крыс. В работе с помощью иммуногистохимии изучены особенности экспрессии рецепторов 5-НТ1А.

**Результаты.** Установлена сильная циркадная зависимость экспрессии рецепторов серотонина 5-НТ1А в общем покрове. В клетках эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов на всем протяжении эксперимента наблюдалось снижение доли иммунопозитивных клеток с одновременным возрастанием позитивности экспрессии 5-НТ1А.

**Заключение.** На протяжении всего эксперимента была выражена сильная циркадная зависимость экспрессии рецепторов серотонина 5-НТ1А в общем покрове, которая, по-видимому, обуславливает механизм адекватного ответа на дестабилизацию циркадных ритмов.

**Ключевые слова:** рецепторы серотонина, эпидермис, сальные железы, волосяные фолликулы, серотонин, темновая депривация

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Соболевская И.С., Краснобаева М.И., Мяделец О.Д. Экспрессия 5-НТ1А рецепторов в общем покрове крыс при темновой депривации // Журнал анатомии и гистопатологии. 2022. Т. 11, №3. С. 57–64. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-57-64>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

### Expression of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in skin of rats under dark deprivation

I. S. Sobolevskaya<sup>✉</sup>, M. I. Krasnobaeva, O. D. Myadelets  
Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

**Abstract.** The aim of the investigation was to study the dynamics of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor expression in the skin of white male rats under dark deprivation.

**Material and methods.** 20 outbred male rats 170–220 grams by mass were used in the experiment. The animals were divided into 2 groups. The intact group included animals under standard fixed lighting conditions (12 h light / 12 h dark). The experimental group consisted of animals with simulation of dark deprivation under conditions of round-the-clock illumination (24 h light). The duration of the study was 21 days. The object of the study was the skin of rats. Using immunohistochemistry, the features of the expression of 5-HT<sub>1A</sub> receptors were studied.

**Results.** A strong circadian dependence of the expression of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the general integument has been established. In the cells of the epidermis, sebaceous glands and hair follicles throughout the experiment, a decrease in the proportion of immunopositive cells was observed with a simultaneous increase in the positivity of 5-HT<sub>1A</sub> expression.

**Conclusion.** Throughout the experiment, a strong circadian dependence of the expression of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the general integument was expressed, which, apparently, determines the mechanism of an adequate response to the destabilization of circadian rhythms.

**Key words:** serotonin receptors, epidermis, sebaceous glands, hair follicles, serotonin, dark deprivation

**Conflict of interests:** the authors declare no conflict of interests.

**For citation:** Sobolevskaya I.S., Krasnobaeva M.I., Myadelets O.D. Expression of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in skin of rats under dark deprivation. Journal of Anatomy and Histopathology. 2022. V. 11, №3. P. 57–64. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-3-57-64>

## Введение

Кожа – самый крупный орган, которому принадлежит ведущая роль в регуляции гомеостаза всего организма. В результате постоянного воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды общий покров приобрел автономную систему саморегулирования (нейроэндокринно-иммунную), одним из компонентов которой является местная мелатонин-серотонинэргическая система (гормоны серотонин и мелатонин, а также их рецепторы) [8, 15].

Кожная серотонин-мелатонинэргическая система сглаживает негативные факторы, противодействует внешним и внутренним стрессам, а также сохраняет биологическую целостность органа и поддерживает его гомеостаз [8, 15, 16, 18]. Важным звеном в работе данной системы выступают мелатонин и его рецепторы [5, 9, 11, 13]. Серотонин же в коже чаще всего рассматривается лишь как промежуточный продукт в синтезе мелатонина. Вместе с тем, кожа рассматривается не просто как место производства серотонина, но и как основная мишень его биорегуляции. Существуют научные данные, подтверждающие существенную роль серотонина в регуляции апоптоза, пролиферации и дифференцировки клеток кожи (кератиноцитов, меланоцитов и дермальных фибробластов), поддержании барьерно-защитных свойств. Серотонин в общем покрове оказывает иммуномодуляторное и вазодилаторное действие. Гормон способен выступать как цитокин, биологический модификатор ответа (BRMs) и фактор роста. Серотонин, участвуя в эндокринных и иммунных функциях, играет важную роль в коже, действуя как посредник между этим органом и нейроэндокринной системой как на центральном, так и на периферическом уровнях [8, 15, 16, 18].

Большинство периферических и системных действий серотонина опосредуются специфическими рецепторами. Серотониновые рецепторы относятся к группе рецепторов, сопряженных с G-белками. Они подразделяются на семь семейств (5-НТ1 – 5-НТ7). К семейству 5-НТ1 относят 5-НТ1А, 5-НТ1В, 5-НТ1D, 5-НТ1Е и 5-НТ1F трансмембранные метаболитные G-белок-связанные рецепторы, которые обладают схожей способностью ингибировать образование цАМФ, а их активация вызывает гиперполяризацию мембран. 5-НТ1А является наиболее распространенным из всех рецепторов 5-НТ и помимо головного мозга обнаруживаются во многих периферических тканях (лимфатических узлах, тимусе, селезенке, коже, печени, кишечнике, бронхах, щитовидной железе, яичниках, поджелудочной железе и др.) [16].

В настоящее время установлено, что в клетках кожи также экспрессируются мембраносвязанные рецепторы, которые опосре-

дуют действие серотонина. Впервые они были обнаружены с помощью молекулярного анализа. Так, в эпидермисе были выявлены мРНК, кодирующие рецепторы 5-НТ1А, 1В, 2А, 2В, 2С и 7. Серотониновые рецепторы самого многочисленного подтипа 5-НТ1А в общем покрове человека и животных экспрессируются в апикальной части эпидермиса, на меланоцитах, а также клетках сосудов дермы [16].

Рецепторы к серотонину были обнаружены и в клетках наружного корневого влагалища волосных фолликулов (преимущественно в фазе анагена) и малодифференцированных клетках сальных желез. При этом было выдвинуто предположение, что экспрессия 5НТ-рецепторов в волосных фолликулах модулируется циклом роста волос [15].

Рецепторы 5-НТ опосредуют важные сигналы, связанные с иммунными ответами. В частности, 5-НТ в коже принимают участие в активации макрофагами Т-лимфоцитов и НК-клеток. Серотониновые рецепторы инициируют реакции гиперчувствительности замедленного типа, производство различных хемотаксических факторов и изменение врожденных иммунных ответов. Экспрессия 5-НТ рецепторов изменяется при некоторых кожных патологиях. Так, нарушение экспрессии 5-НТ1AR приводит к усилению миграции и адгезии тучных клеток в месте повреждения ткани. Количество 5-НТ1AR-позитивных клеток в эпидермисе уменьшается при аллергической контактной экземе, псориазе и атопическом дерматите [18]. Экспериментальным путем было установлено, что местное или пероральное введение крысам с аллергическим контактным дерматитом неселективного агониста рецептора 5-НТ1AR буспирона снижает тяжесть кожных реакций. Кроме того, клинически было установлено, что у пациентов с атопическим дерматитом тандоспирон, агонист того же рецептора, снижает уровень аллергической реакции и уменьшает зуд [18].

Одной из причин изменения экспрессии рецепторов серотонина в коже является психологический стресс. Так, стресс активирует ось гипоталамус–гипофиз–надпочечники (ось НРА), что приводит к увеличению циркулирующих уровней кортикостероидов, которые воздействуют на процессы синтеза и обмена 5-НТ. В частности, наблюдается резкое снижение уровней 5-НТ1AR, либо за счет прямого действия кортизола на экспрессию генов, либо за счет ингибирования обратной связи. Изменения в экспрессии 5-НТ1AR может модулировать барьерно-защитную функцию эпидермиса и приводить к воспалительным процессам в коже [19]. Доказано, что стресс способствует распространению и усугублению кожных заболеваний, таких как псориаз, атопический дерматит, себорейная экзема, хроническая крапивница и очаговая алопеция, а также замедляет процесс заживления

ран [3, 4, 6]. Кроме того, хронический стресс способствует старению кожи [12].

Экспрессия серотонина и его рецепторов регулируется у млекопитающих циркадными ритмами [15, 18]. Так, серотонин принимает непосредственное участие в работе цикла сон–бодрствование совместно с мелатонином. В настоящее время принято считать, что в норме серотонин в основном способствует бодрствованию и подавляет быстрый сон. Сродство 5-HT<sub>1A</sub>R рецепторов к серотонину достаточно велико, а их уровень контролируется нормальными дневными концентрациями гормона. Экспериментальным путем было продемонстрировано, что у мышей с нокаутом рецепторов 5-HT<sub>1A</sub> и 5-HT<sub>1B</sub> возрастает продолжительность сна, тогда как, системное введение таким животным полных агонистов постсинаптических 5-HT<sub>1A</sub> рецепторов (8-OH-DPAT, флезиноксана) способствует восстановлению ритмов. Кроме того, в работе K. Nordlind, E.C. Azmitia и A. Slominski (2008) отмечается, что снижение экспрессии рецепторов 5-HT<sub>1A</sub> в коже наблюдается при длительной стимуляции серотонином (действие света в ночное время) [7]. В результате сверхстимуляции серотониновых рецепторов происходит их сенсибилизация и развитие состояния, характерного для серотонинового синдрома.

Следовательно, кожная серотонинергическая-мелатонинергическая система является структурным компонентом периферической защиты, который действует для сохранения физической и функциональной целостности кожи.

Цель исследования – изучить динамику экспрессии рецептора серотонина 5-HT<sub>1A</sub> в коже белых крыс-самцов при темновой депривации.

### Материал и методы исследования

В эксперименте были использованы 20 белых беспородных крыс-самцов с массой тела 170–220 г. Животных содержали в стандартных пластиково-металлических клетках по 5–6 особей со свободным доступом к корму и воде. Все животные находились на одинаковом оптимальном рационе питания, предусмотренном для лабораторных животных.

Подопытные животные в соответствии со схемой эксперимента случайным образом были рандомизированы на две группы. 1-я группа – интактная (n=5) – животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного освещения (12 ч свет/12 ч темнота); 2-я группа – животные с моделированием темновой депривации в условиях круглосуточного освещения (24 ч свет) (n=15).

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с требованиями гуманного обращения с экспериментальными животными, содержащимися в методических

указаниях «Положение о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе Учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет» и мерах по реализации требований биомедицинской этики – 2010» [1]. Постановка экспериментального исследования с применением лабораторных животных соответствует рекомендациям Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директиве Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes) и рекомендациям FELASA Working Group Report (1994–1996), ТКП 125-2008. Протокол-дизайн эксперимента одобрен комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными ВГМУ.

Для изучения динамики изменений экспрессии рецепторов серотонина животных выводили из эксперимента поэтапно (через 7 (n=5), 14 (n=5) и 21 (n=5) сут от начала опыта). После умерщвления животных декапитацией с применением гильотины в состоянии кратковременного эфирного наркоза проводили взятие фрагментов кожи межлопаточной области спины размером 10×10 мм. Образцы ткани фиксировали в течение 24 ч в 10% растворе нейтрального забуференного формалина и заливали в парафин.

После проведения стандартной гистологической проводки серийные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и иммуногистохимически с использованием поликлональных антител 5-HT<sub>1A</sub> (Elabscience, USA). Визуализацию проводили с помощью набора Bond Research Detection (Leica, USA). Для иммуногистохимической окраски использовали полностью автоматизированный иммуногистостейнер Leica Microsystems Bond-maX. В результате реакции 5-HT<sub>1A</sub>-позитивные области окрашивались в коричневый или желтоватый цвета. Для объективной оценки результатов иммуногистохимической реакции использовали положительный и отрицательный контроли.

Изменения в гистологических препаратах оценивали при увеличениях ×200, ×400. Для морфологической оценки экспрессии рецепторов 5-HT<sub>1A</sub> использовали компьютерную систему анализа изображений (микроскоп Leica DM 2000 с цифровой камерой и лицензионной программой Leica Application Suite, Version 3.6.0). Для морфометрического анализа данных применяли лицензионную

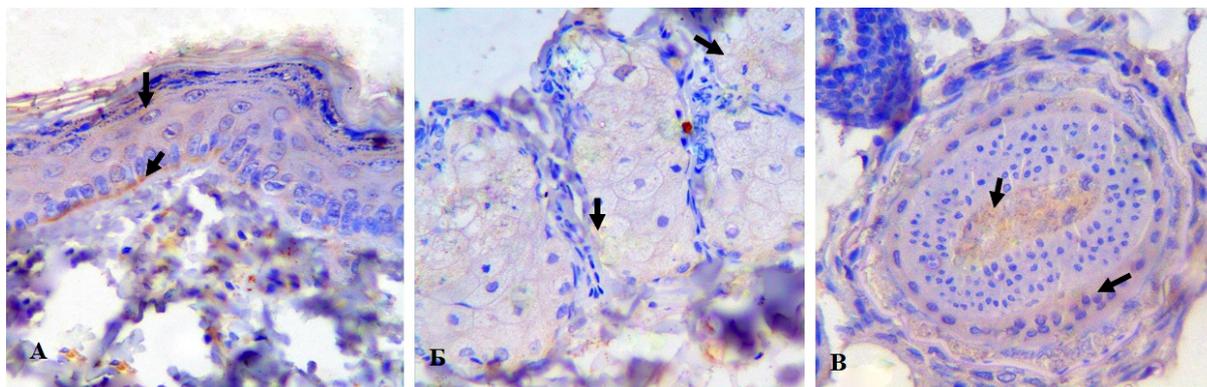


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция с антителами 5-НТR1А (контрольная группа): А – в эпидермисе кожи крыс (кератиноциты с высокой плотностью 5-НТR1А (стрелка)); Б – в клетках сальных желез кожи крыс (себоциты с 5-НТR1А (стрелка)); В – в клетках волосяных фолликулов кожи крыс (клетки наружного корневого эпителиального влагалища и клетки мозгового вещества с высокой плотностью 5-НТR1А (стрелка)). Ув. 400.

компьютерную программу анализа изображений Image Score Color, с помощью которой автоматически оценивали коэффициент заполнения (%) (отношение иммуногистохимически окрашенных участков клеток к иммуногистохимически негативным областям), а также программу обработки изображений ImageJ. Плагины программы ИНС Profiler и ColorSegmentation использовали для деконволюции цвета и автоматического выделения и подсчета площади интересующего цветового спектра (попиксельный анализ) по отношению к площади снимка с переводом числовых значений в проценты. Выделяли 3 уровня интенсивности по числу позитивных пикселей, которые переводили в балльный эквивалент, соответствующий их интенсивности (реакция отсутствовала – 0 баллов, слабо позитивная реакция – 1 балл, умеренно позитивная реакция – 2 балла, максимально позитивная реакция – 3 балла). Для анализа характера цитоплазматической экспрессии МТ1 рассчитывали позитивность экспрессии (отношение суммы пикселей иммунопозитивных участков к общей сумме позитивных и негативных пикселей) и коэффициент интенсивности экспрессии в иммунопозитивных участках (отношение суммы произведений числа позитивных пикселей на балльный эквивалент, соответствующий их интенсивности, к общему числу позитивных пикселей).

Всю статистическую обработку данных проводили с использованием методов непараметрической статистики с помощью программы «Statistica 10.0» (StatSoft inc., STA999K347156-W). Для каждой выборки определяли нормальность частот распределения количественных признаков. Для их проверки применяли W-критерий Шапиро–Уилка. Во всех рассматриваемых группах переменные имели распределение, отличное от нормального ( $W < 0,05$ ). Проверку статистических гипотез равенства средних генеральной совокупности проводили с помощью критериев U

(Манна–Уитни) и H (Краскела–Уоллиса) при принятом уровне значимости  $\alpha = 0,05$ . Результаты в тексте представлены в виде средней (M) и доверительного интервала.

### Результаты и их обсуждение

При изучении гистологических препаратов кожи контрольной группы крыс морфологическая картина соответствовала норме. Результаты иммуногистохимического окрашивания свидетельствовали о наличии 5-НТR1А-рецепторов преимущественно в области эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов, что подтверждает более высокую серотониновую зависимость функционирования данных структур кожи. В значительной степени реакция проявлялась в мембранно-цитоплазматической зоне клеток, поскольку используемое антитело было нацелено на G-белок плазмолеммы. При этом распределение метки было довольно неравномерным.

В эпидермисе экспрессия серотониновых рецепторов 1А наблюдалась преимущественно в кератиноцитах базального и шиповатого слоев (рис. 1А). Однако 5-НТR1А<sup>+</sup>-клетки встречались и в зернистом слое. Это подтверждается ранее высказанным предположением о локализации 5-НТR1А-рецепторов в эпидермисе [16, 18, 19]. Аналогичное распределение в активно дифференцирующихся клетках иммуногистохимической позитивности наблюдалось и при исследовании рецепторов к мелатонину МТ1 [2, 17]. Это может служить подтверждением того, что пролиферативная активность кератиноцитов эпидермиса, а также его барьерно-защитные свойства находятся в непосредственной зависимости от уровня гормонов мелатонина и серотонина.

В кератиноцитах экспрессия 5-НТR1А-рецепторов регистрировалась в виде мелкой зернистости светло коричневого цвета. При этом в некоторых случаях можно было

Таблица 1

**Показатели рецепторов 5-HTR1A при темновой депривации**

Показатели		Группа			Интактная, n=5
		Темновая депривация			
		7-е сутки, n=5	14-е сутки, n=5	21-е сутки, n=5	
Коэффициент заполнения, %	Эпидермис	0,217 (0,196–0,237) p <sup>1</sup> =0,0012	0,290 (0,279–0,312) p <sup>1</sup> =0,015 p <sup>2</sup> =0,0023	0,294 (0,282–0,307) p <sup>1</sup> =0,0026 p <sup>2</sup> =0,0007 p <sup>3</sup> <0,0001	0,363 (0,332–0,395)
	Сальная железа	0,208 (0,185–0,232) p <sup>1</sup> =0,010	0,291 (0,269–0,313) p <sup>1</sup> =0,019 p <sup>2</sup> =0,0002	0,282 (0,269–0,296) p <sup>1</sup> =0,0026 p <sup>2</sup> <0,0001 p <sup>3</sup> <0,0001	0,358 (0,324–0,391)
	Волосяной фолликул	0,198 (0,170–0,225) p <sup>1</sup> =0,0008	0,207 (0,192–0,222) p <sup>1</sup> =0,0008 p <sup>2</sup> =0,0001	0,248 (0,234–0,262) p <sup>1</sup> =0,0015 p <sup>2</sup> =0,0001 p <sup>3</sup> <0,0001	0,361 (0,328–0,394)
Позитивность экспрессии, %	Эпидермис	1,72 (1,41–2,03) p <sup>1</sup> =0,0008	3,04 (2,64–3,45) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0005	5,54 (5,13–5,95) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0001 p <sup>3</sup> =0,0230	0,86 (0,694–1,04)
	Сальная железа	5,58 (4,09–6,27) p <sup>1</sup> =0,0007	8,31 (6,68–9,95) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0001	9,22 (8,30–10,16) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0001 p <sup>3</sup> =0,0007	0,981 (0,654–1,309)
	Волосяной фолликул	5,54 (4,80–6,29) p <sup>1</sup> =0,0007	9,48 (8,49–10,48) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0015	10,65 (9,66–11,64) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> >0,05 p <sup>3</sup> <0,0001	0,026 (0,019–0,033)
Коэффициент интенсивности экспрессии, усл.ед	Эпидермис	0,018 (0,015–0,021) p <sup>1</sup> =0,0008	0,031 (0,026–0,035) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0005	0,239 (0,195–0,282) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0001 p <sup>3</sup> =0,0230	0,009 (0,007–0,010)
	Сальная железа	0,060 (0,050–0,071) p <sup>1</sup> =0,0007	0,083 (0,067–0,099) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0015	0,235 (0,2212–0,258) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0001 p <sup>3</sup> <0,0001	0,011 (0,007–0,015)
	Волосяной фолликул	0,092 (0,054–0,130) p <sup>1</sup> =0,0007	0,099 (0,086–0,112) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> =0,0015	0,111 (0,100–0,122) p <sup>1</sup> =0,0007 p <sup>2</sup> >0,05 p <sup>3</sup> <0,0001	0,0003 (0,0002–0,0004)

Примечание: <sup>1</sup> – по сравнению с интактной группой; <sup>2</sup> – по сравнению аналогичной группой 7 суток; <sup>3</sup> – по сравнению аналогичной группой 14 суток (U–критерий для попарного сравнения).

отметить неоднородную окраску иммунопозитивных участков, так что 5-HTR1A<sup>+</sup>-клетки перемежались с 5-HTR1A<sup>-</sup>-клетками в виде мозаики (рис. 1А).

Проведенный количественный анализ показал, что процентная доля иммуногистохимической активности (коэффициент заполнения), а также коэффициент интенсивности экспрессии 5-HTR1A в кератиноцитах эпидермиса составляли 0,363 (0,332–0,395) и 0,0009 (0,007–0,010), соответственно, а пози-

тивность экспрессии – 0,86 (0,69–1,04) (табл. 1).

В сальных железах максимальная экспрессия 5-HTR1A наблюдалась в малодифференцированных клетках концевых отделов, а также в области выводных протоков желез. Дифференцированные себоциты также показывали цитоплазматическую позитивность, но менее интенсивную, а в некоторых клетках видимая экспрессия отсутствовала полностью (рис. 1Б). Установлено, что коэффициент

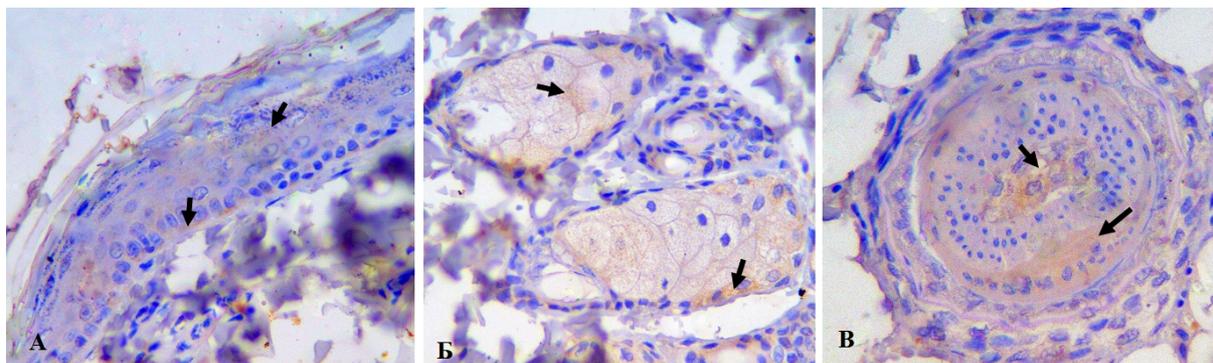


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция с антителами 5-НТR1А (группа темновой депривации): А – в эпидермисе кожи крыс (кератиноциты с высокой позитивностью реакции 5-НТR1А (стрелка)); Б – в клетках сальных желез кожи крыс (себоциты с высокой позитивностью реакции 5-НТR1А (стрелка)); В – в клетках волосяных фолликулов кожи крыс (клетки наружного корневого эпителиального влагалища и клетки мозгового вещества с высокой позитивностью реакции 5-НТR1А (стрелка)). Ув. 400.

заполнения 5-НТR1А в клетках сальных желез составлял 0,358 (0,324–0,391), коэффициент интенсивности экспрессии – 0,011 (0,007–0,015), позитивность экспрессии 5-НТR1А – 0,86 (0,69–1,04) (табл. 1).

В волосяных фолликулах 5-НТR1А-позитивную реакцию давали клетки наружного корневого эпителиального влагалища, а также клетки мозгового вещества (рис. 1В). Так, коэффициенты заполнения и интенсивности экспрессии в волосяных фолликулах составляли 0,361 (0,328–0,394) и 0,0003 (0,0002–0,0004) соответственно, а выраженность позитивной реакции к 5-НТR1А (позитивность экспрессии) – 0,98 (0,65–1,31).

В условиях темновой депривации имели место существенные колебания экспрессии рецепторов 5-НТR1А. Так, на 7-е сутки наблюдалось уменьшение процентной доли 5-НТR1А-позитивных клеток в эпидермисе, сальных железах и волосяных фолликулах кожи крыс. Так, на этом сроке коэффициент заполнения составлял 0,217 (0,196–0,237) ( $p=0,0012$ ) в эпидермисе, 0,208 (0,185–0,232) ( $p=0,010$ ) – в сальных железах и 0,198 (0,170–0,225) ( $p=0,0008$ ) – в волосяных фолликулах. Одновременно с этим во всех изучаемых структурах отмечалось резкое повышение значений, характеризующих выраженность интенсивности экспрессии рецепторов 5-НТR1А (позитивность экспрессии и коэффициент интенсивности экспрессии) во всех изучаемых структурах (табл. 1). Наиболее активное возрастание отмечалось в волосяных фолликулах.

Через 14 суток от начала эксперимента в коже животных коэффициент заполнения рецепторов 5-НТR1А, по сравнению с интактными животными ( $p>0,05$ ) сохранялся на низком уровне и соответствовал значениям ( $p<0,05$ ) семи суток (0,290 (0,279–0,312) в эпидермисе, 0,291 (0,269–0,313) – в сальных железах и 0,207 (0,192–0,222) – в волосяных фолликулах (табл. 1). Вместе с тем, показатели иммунореактивности 5-НТR1А значительно увеличились во всех изучаемых структурах

как по сравнению с предыдущим сроком наблюдениями, так и с данными контрольных животных.

Из табл. 1 хорошо видно, что на 21-е сутки эксперимента процентная доля 5-НТR1А<sup>+</sup>клеток во всех изучаемых структурах по-прежнему оставалась сниженной. Одновременно с этим, на 21-е сутки хронодеструкции выраженность интенсивности иммуногистохимического окрашивания продолжала возрастать по сравнению с группой контроля, и составляла 0,239 (0,195–0,282) ( $p=0,0007$ ) в эпидермисе, 0,235 (0,2212–0,258) ( $p=0,0007$ ) – в сальных железах и 0,160 (0,143–0,177) ( $p=0,0007$ ) – в волосяных фолликулах (рис. 2).

### Заклучение

На протяжении всего эксперимента наблюдалась сильная циркадная зависимость экспрессии рецепторов серотонина 5-НТR1А в общем покрове, которая, по-видимому, обуславливает механизм адекватного ответа на дестабилизацию циркадных ритмов. Так, выявленное значительное снижение экспрессии 5-НТR1А в общем покрове при воздействии постоянным светом может быть связано с сенсибилизацией рецепторов (уменьшением их количества и увеличением их чувствительности) при длительном хроническом воздействии серотонина. Учитывая тот факт, что максимальная выработка данного гормона наблюдается в дневное время, можно предположить, что в ответ на круглосуточное пребывание при свете происходит увеличение уровня серотонина. Подтверждением этого могут выступать полученные авторами ранее данные по изменению экспрессии рецепторов мелатонина МТ1 при темновой депривации [2, 17]. Так, при аналогичных условиях эксперимента отмечалось компенсаторное возрастание экспрессии МТ1-рецепторов на поверхности кератиноцитов и себоцитов в ответ на снижение количества высвобождаемого мелатонина. Как известно, в организме человека

мелатонин синтезируется из аминокислоты триптофана, которая днем участвует также в синтезе серотонина, а он, в свою очередь, под воздействием фермента N-ацетилтрансферазы в ночное время превращается в мелатонин. Таким образом, закономерным можно считать, что при темновой депривации происходит снижение выработки мелатонина и увеличение синтеза серотонина, а это, в свою очередь, приводит к существенному изменению в экспрессии рецепторов данных гормонов.

Обращает на себя внимание и тот факт, что к 21-м суткам исследования доля 5-HTR1A<sup>+</sup>-клеток незначительно возростала. Учитывая тот факт, что циркулирующий серотонин влияет на собственный уровень по принципу отрицательной обратной связи [1, 2], длительное пребывание животных при постоянном свете приведет к снижению его выработки и возрастанию экспрессии 5-HTR1A рецепторов в клетках эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов. Клетки начинают компенсировать недостаток гормона возрастанием уровня рецепторов для восприятия его минимальных количеств.

Таким образом, можно предположить, что снижение экспрессии 5-HTR1A-рецепторов в общем покрове при нарушении циркадного ритма может, очевидно, привести к усилению окислительного стресса в коже, снижению ее фотозащитных свойств и увеличению проницаемости (за счет нарушения липидного барьера) кожи, ингибированию пролиферации кератиноцитов и фибробластов, а также изменению сигналов, связанных с иммунным ответом. В таком случае, изменение экспрессии 5-HT1AR может выступать одним из факторов возникновения заболеваний кожи [7]. Полученные нами результаты в ряде случаев согласуются с наблюдениями других авторов [3, 8, 14, 15]. Известно, что 5-HTR1A-рецепторы представляют собой важнейший компонент связывания серотонина в коже, а их экспрессия может значительно влиять на эффекты данного гормона. При этом иммуногистохимические методы позволили нам установить существующую потенциальную связь между нарушением суточных ритмов и экспрессией серотониновых рецепторов. Это подтверждает важность как самого серотонина, так и его рецепторов в контроле циркадного ритма кожи, который, в свою очередь, может оказывать непосредственное влияние на способность клеток общего покрова контролировать возникающие повреждения.

### Список источников / References

1. Санитарные правила и нормы 2.1.2.12-18-2006 «Устройство оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (vivarium) от 31 октября 2006 №131 [Sanitarnye pravila i normy 2.1.2.12-18-2006 «Ustroistvo oborudovanie i sodержanie eksperimental'no-biologicheskikh klinik (vivarium) ot 31 oktyabrya 2006 №131] (in Russian).
2. Соболевская И.С., Краснобаева М.И., Мяделец О.Д. Изменения экспрессии рецепторов мелатонина MT1 в кожном покрове крыс, вызванные темновой депривацией [Sobolevskaya IS, Krasnobaeva MI, Myadelets OD. Changes in expression of melatonin MT1 receptors in the general cover of rats caused by dark deprivation (experimental study). Ukrainian Journal of Occupational Health. 2020 Jun 30;2020(2):143–51] (in Russian). doi: 10.33573/ujoh2020.02.143
3. Arck P, Paus R. From the Brain-Skin Connection: The Neuroendocrine-Immune Misalliance of Stress and Itch. *Neuroimmunomodulation*. 2006;13(5-6):347–56. doi: 10.1159/000104863
4. Benhadou F, Mintoff D, del Marmol V. Psoriasis: Keratinocytes or Immune Cells – Which Is the Trigger? *Dermatology*. 2018 Dec 19;235(2):91–100. doi: 10.1159/000495291
5. Emet M, Ozcan H, Ozel L, Yayla M, Halici Z, Hacimuftuoglu A. A Review of Melatonin, Its Receptors and Drugs. *The Eurasian Journal of Medicine*. 2016 Jul 22;48(2):135–41. doi: 10.5152/eurasianjmed.2015.0267
6. Hugh JM, Weinberg JM. Update on the pathophysiology of psoriasis. *Cutis*. 2018 Nov;102(5S):6–12.
7. Kabashima K, Honda T, Ginhoux F, Egawa G. The immunological anatomy of the skin. *Nature Reviews Immunology*. 2018 Nov 14;19(1):19–30. doi: 10.1038/s41577-018-0084-5
8. Kim T, Kleszczyński K, Janjetovic Z, Sweatman T, Lin Z, Li W, et al. Metabolism of melatonin and biological activity of intermediates of melatonergic pathway in human skin cells. *The FASEB Journal*. 2013 Apr 25;27(7):2742–55. doi: 10.1096/fj.12-224691
9. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovska-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2016 Jan 6;56(1):361–83. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742
10. Martins AM, Ascenso A, Ribeiro HM, Marto J. The Brain–Skin Connection and the Pathogenesis of Psoriasis: A Review with a Focus on the Serotonergic System. *Cells*. 2020 Mar 26;9(4):796. doi: 10.3390/cells9040796
11. Mathes AM, Heymann P, Ruf C, Huhn R, Hinkelbein J, Volk T, et al. Endogenous and Exogenous Melatonin Exposure Attenuates Hepatic MT1 Melatonin Receptor Protein Expression in Rat. *Antioxidants*. 2019 Sep 18;8(9):408. doi: 10.3390/antiox8090408
12. Nordlind K, Azmitia EC, Slominski A. The skin as a mirror of the soul: exploring the possible roles of serotonin. *Experimental Dermatology*. 2008 Apr;17(4):301–11. doi: 10.1111/j.1600-0625.2007.00670.x
13. Plikus MV, Andersen B. Skin as a window to body-clock time. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018 Nov 14;115(48):12095–7. doi: 10.1073/pnas.1817419115
14. Sansone RA, Sansone LA. Sunshine, serotonin, and skin: a partial explanation for seasonal patterns in psychopathology? *Innovations in clinical neuroscience*. 2013;10(7-8):20–4.
15. Slominski A, Pisarchik A, Semak I, Sweatman T, Wortzman J, Szczesniowski A, et al. Serotonergic and melatonergic systems are

- fully expressed in human skin. The FASEB Journal. 2002 Apr 23;16(8):896–8. doi: 10.1096/fj.01-0952fje
16. Slominski A, Wortsman J, Tobin DJ. The cutaneous serotonergic/melatonergic system: securing a place under the sun. The FASEB Journal. 2005 Feb;19(2):176–94. doi: 10.1096/fj.04-2079rev
17. Sobolevskaya IS, Krasnobaeva MI, Myadelets OD. Effect of exogenous melatonin and flaxseed oil on the expression state of MT1 receptors in rat skin under light deprivation. Reports of morphology. 2021;1(2): 30–9.
18. Younes SF, Bakry OA. Immunohistochemical Evaluation of Role of Serotonin in Pathogenesis of Psoriasis. Journal of Clinical And Diagnostic Research. 2016 Oct;10(10):EC05–9. doi: 10.7860/jcdr/2016/22692.8719
19. Zmijewski MA, Slominski AT. Neuroendocrinology of the skin. Dermato-Endocrinology. 2011 Jan;3(1):3–10. doi: 10.4161/derm.3.1.14617

#### Информация об авторах

✉Соболевская Ирина Сергеевна – канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Витебского государственного медицинского университета. Пр-т Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь; irinabelikovavgmu@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8300-7547>  
Краснобаева Марина Игоревна – аспирант; histologyvsmu@gmail.com  
Мяделец Олег Данилович – д-р мед. наук, профессор; histologyvsmu@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>

#### Information about the authors

✉Irina S. Sobolevskaya – Cand. Biol. Sci., Assoc. Prof. of department of histology, cytology and embryology Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University. Prospekt Frunze, 27, Vitebsk, 210009, Republic of Belarus; irinabelikovavgmu@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8300-7547>  
Marina I. Krasnobaeva – postgraduate student; histologyvsmu@gmail.com  
Oleg D. Myadelets – Doct. Med. Sci., Professor; histologyvsmu@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-8796-052X>

Статья поступила в редакцию 23.05.2022; одобрена после рецензирования 15.08.2022; принята к публикации 15.09.2022.  
The article was submitted 23.05.2022; approved after reviewing 15.08.2022; accepted for publication 15.09.2022.