

УДК: 616.61-002-07-08-092.9:612.397.2

<https://doi.org/10.52420/umj.25.4.80>

<https://elibrary.ru/FGXSHU>



Иммуногистохимический анализ экспрессии TGF- β 1 в почках крыс на модели воздействия сероводорода и циклоспорина А

Екатерина Валерьевна Тризно^{1✉}, Матвей Николаевич Тризно¹,
Валерий Валерьевич Новочадов²

¹ Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

² Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия

✉ neiron-2010@mail.ru

Аннотация

Введение. При патологическом старении почек наблюдаются клеточная сенесценция, воспаление и фиброз. Основным регулятором при этом является TGF- β 1, который секретируется в составе сенесцентного фенотипа. Мы смоделировали ускоренное старение с помощью H₂S и CsA, индуцирующих окислительный стресс.

Цель исследования — оценить влияние H₂S и CsA, как отдельно, так и в комбинации, на экспрессию TGF β 1 и развитие сенесцентных изменений в почках возрастных лабораторных крыс.

Материалы и методы. Исследование на 44 самцах белых беспородных крыс старше 18 месяцев в 4 группах: контрольная, H₂S (0,26 ммоль/сут, 10 дней), CsA (20 мг/кг/сут, 25 дней) и H₂S+CsA. Парафиновые срезы почек проанализированы морфологически и иммуногистохимически (доля TGF- β 1 позитивных клеток по QuPath). Статистическая обработка: критерий Краскела — Уоллиса.

Результаты. Наибольшая доля TGF- β 1 позитивных клеток выявлена в группе комбинированного воздействия: в канальцах — до 7,86 [7,64; 8,03] %, в интерстиции — до 7,77 [7,61; 7,95] %. При изолированном воздействии H₂S и CsA доля TGF- β 1-позитивных клеток была ниже: 4,97 [4,68; 5,66] % и 5,71 [5,47; 5,81] % в канальцах соответственно.

Заключение. Комбинированное воздействие H₂S и CsA синергетически усиливает долю TGF β 1 позитивных клеток в канальцах и интерстиции почек, способствуя сенесценции и фибротическому ремоделированию. TGF β 1 выступает как ключевой маркер и драйвер патологического старения почек.

Ключевые слова: патологическое старение, сенесценция, TGF- β 1 (transforming growth factor beta-1), почка, сероводород, циклоспорин А

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комитетом по этике Астраханского государственного медицинского университета (протокол № 6 от 27 ноября 2018), соответствует этическим стандартам, изложенным в Хельсинской декларации (версия 2013 г.) и рекомендациям Commission of the European Communities, 2010/63/EC.

Для цитирования: Тризно Е. В., Тризно М. Н., Новочадов В. В. Иммуногистохимический анализ экспрессии TGF- β 1 в почках крыс на модели воздействия сероводорода и циклоспорина А // Уральский медицинский журнал. 2026. Т. 25, № 4. С. 80–90. DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.25.4.80>. EDN: <https://elibrary.ru/FGXSHU>.

Immunohistochemical Analysis of TGF- β 1 Expression in Rat Kidneys Using a Model of Hydrogen Sulfide and Cyclosporine A Exposure

Ekaterina V. Trizno¹✉, Matvey N. Trizno¹, Valery V. Novochadov²

¹ Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

² Volgograd State University, Volgograd, Russia

✉ neiron-2010@mail.ru

Abstract

Pathological aging of the kidneys is characterized by cellular senescence, inflammation, and fibrosis. The main regulator in this process is TGF- β 1, which is secreted as part of the senescence-associated secretory phenotype (SASP). We have modeled accelerated aging using H₂S and CsA, which induce oxidative stress.

The aim of the study was to evaluate the effect of H₂S and CsA, both individually and in combination, on the expression of TGF β 1 and the development of senescent changes in the kidneys of aged laboratory rats.

Materials and methods. The study was conducted on 44 male white rats older than 18 months in 4 groups: control, H₂S (0.26 mmol/day, 10 days), CsA (20 mg/kg/day, 25 days), and H₂S+CsA. The kidney paraffin sections were analyzed morphologically and immunohistochemically (QuPath TGF β 1-positive cell percentage). Statistical analysis: Kruskal–Wallis test.

Results. The highest percentage of TGF- β 1-positive cells was found in the combined exposure group: up to 7.86 [7,64; 8,03] % in the tubules and up to 7.77 [7,61; 7,95] % in the interstitium. In the isolated exposure to H₂S and CsA, the percentage of TGF- β 1-positive cells was less: 4.97 [4,68; 5,66] % и 5.71 [5,47; 5,81] % in the tubules, respectively.

Conclusion. The combined effect of H₂S and CsA synergistically increases the proportion of TGF- β 1-positive cells in the tubules and interstitium of the kidneys, promoting senescence and fibrotic remodeling. TGF- β 1 acts as a key marker and driver of pathological kidney aging.

Keywords: pathological aging, senescence, TGF- β 1 (transforming growth factor beta-1), kidney, hydrogen sulfide, cyclosporine A

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Conformity with the principles of ethics: The study was approved by the Ethics Committee of Astrakhan State Medical University (Conclusion № 6 dated 27 November 2018) and complies with the ethical standards outlined in the Helsinki Declaration (2013) and the recommendations of the Commission of the European Communities, 2010/63/EC.

For citation: Trizno EV, Trizno MN, Novochadov VV. Immunohistochemical analysis of TGF- β 1 expression in rat kidneys using a model of hydrogen sulfide and cyclosporine A exposure. *Ural Medical Journal*. 2026;25(4):80–90. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.25.4.80>. EDN: <https://elibrary.ru/FGXSHU>.

© Тризно Е. В., Тризно М. Н., Новочадов В. В., 2026

© Trizno E. V., Trizno M. N., Novochadov V. V., 2026

Введение

Патоморфологические изменения, развивающиеся в почках при патологическом старении, характеризуются полиморфизмом [1, 2]. Они включают метаплазию, сенесценцию и разнообразные формы клеточной гибели [3, 4].

Запрограммированная клеточная гибель и различные варианты остановки клеточного цикла, сопровождающие этот процесс, не всегда свидетельствуют о патологическом характере, а могут быть признаками физиологического ремоделирования ткани [5]. Нарушение же эли-

минации дисфункциональных клеток и хроническое воспаление приводят к накоплению сенесцентных клеток, для которых остановка клеточного цикла становится необратимой [6, 7].

Сенесценция может быть инициирована различными стрессовыми сигналами, включая воздействие активных форм кислорода, экзогенных и эндогенных токсинов [8–10]. Исследования на моделях генномодифицированных мышей с выключением гена ингибитора циклин-зависимой киназы 1A (*англ.* cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, *Cdkn1a*), кодирующего протеин 21 (*англ.* protein 21, p21), показали, что отсутствие сенесценции компенсируется активацией апоптотических механизмов, однако это приводит к нарушению нормальной дифференцировки тканей, проявляющемуся в признаках дисплазии у потомства [11]. В то же время данный маркер отражает остановку клеточного цикла, но не обязательно устойчивую сенесценцию: остановка может быть временной, а экспрессия p21 — кратковременной.

Часто при возраст-ассоциированных заболеваниях повышается уровень лизосомального фермента SA- β -gal¹, но он не связан функционально с механизмами сенесценции, может повышаться при других состояниях (дифференцировке макрофагов), часто дает ложноположительные результаты, зависит от условий окрашивания (pH² среды) и используется только на свежемороженом материале [12].

Достаточно специфической особенностью сенесцентных клеток является секреция провоспалительных цитокинов, факторов роста и протеаз, среди которых особое место занимает трансформирующий фактор роста β 1 (*англ.* transforming growth factor β 1, TGF- β 1), действие которого связано с экспрессией циклин-зависимых киназных ингибиторов (p15Ink4b, p21, p27), что приводит к остановке клеточного цикла [13]. Кроме того, TGF- β 1 способствует окислительному стрессу, ингибирует теломеразу и запускает другие процессы, хорошо известные как индукторы сенесценции [14, 15]. Маркер не только указывает на наличие сенесценции, но и участвует в ее поддержании и распространении [16, 17].

Весь этот широкий спектр синтеза биологически активных веществ объединяется понятием «сенесцентного секреторного фенотипа» (*англ.* senescence-associated secretory phenotype, SASP). Особенно наглядно это проявляется в почках, где сенесцентные клетки активно взаимодействуют с микроокружением путем секреции различных сигнальных молекул, модулируя поведение фибробластов, эпителиальных и иммунных клеток, тем самым поддерживая хроническое воспаление [18].

Несмотря на то, что механизмы сенесценции интенсивно изучаются во всем мире, особенностей развития дисфункции почек при патологическом старении, вызванном токсическими (как сероводород (*англ.* hydrogen sulfide, H₂S)) или иммуносупрессирующими (как циклоспорин А (*англ.* cyclosporine A, CsA) воздействий в доступной литературе крайне мало [1, 3, 19, 20, 21].

Цель настоящего исследования — оценить влияние H₂S и CsA, как отдельно, так и в комбинации, на экспрессию TGF- β и развитие сенесцентных изменений в почках возрастных лабораторных крыс.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы самцы белых беспородных лабораторных крыс ($n = 44$) старше 18 месяцев («пожилые» или «возрастные», массой тела 365–374 г) [22]. Животные были предоставлены виварием лаборатории физиологии, морфологии, генетики и биоме-

¹ SA- β -gal — β -галактозидаза, ассоциированная со старением (*англ.* Senescence-Associated Beta-Galactosidase).

² pH — водородный показатель (*лат.* pondus Hydrogenii).

дицины Астраханского государственного университета (Россия, Астрахань). Исследование проводили в соответствии с «Положением о содержании и использовании лабораторных животных в Астраханском государственном медицинском университете (заключение локально-этической комиссии № 6 от 27.11.2018)», соответствует этическим стандартам, изложенным в Хельсинской декларации (версия 2013 г.) и рекомендациям Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС. Обезболивание производили препаратом «Амелотекс» («Сотекс»): 0,2 мг на 1 кг массы тела. Для наркоза использовали золетил + ксилазин («Nita-Farm»): 1 мл + 0,1 мл на 1 кг массы тела. Выводили из эксперимента созданием пневмоторакса.

Животные были разделены на 4 группы, по 11 особей в каждой: контрольная; с введением H_2S ; с введением CsA; и комбинированного воздействия (H_2S + CsA). H_2S (раствор 10%-го сульфида натрия) вводили один раз в сутки внутривентрально в течение 10 дней. Такая концентрация соответствует 0,26 мМ H_2S , что превышает физиологический уровень в плазме крови животных более чем в 3 раза. CsA «Сандиммун-Неорал» (Novartis, Швейцария) вводили внутривентрально в дозе 20 мг/кг массы тела в течение 25 дней. Дозировки H_2S (0,26 ммоль/сут) и CsA (20 мг/кг/сут) были выбраны на основе опубликованных данных, демонстрирующих их способность вызывать стойкий оксидативный стресс у крыс-моделей без летального исхода [23, 24].

Фрагменты ткани почек вырезали вертикальным разрезом через ворота, верхний и нижний полюсы, а также наружный край органа. После фиксации в 4% растворе параформальдегида и гистологической проводки препаратов изготавливали парафиновые срезы в 4–6 мкм толщиной для окрашивания гематоксилином и эозином, проведения ШИК-реакции и иммуногистохимического выявления TGF- β 1.

Окрашивание на TGF- β 1 проводили следующим образом¹. После депарафинизации срезов осуществляли восстановление антигенов при 85 °С в 10 ммоль/л цитратном буфере (рН 8,0). Срезы обрабатывали 3% раствором перекиси водорода для подавления активности эндогенной пероксидазы и блокировали неспецифические связывания с помощью бычьего сывороточного альбумина. Инкубацию проводили первичными поликлональными кроличьими антителами к TGF- β 1 (Affinity Biosciences, Китай) в разведении 1:200 в течение 8 часов при 4 °С. После промывки фосфатным буферным раствором срезы инкубировали с вторичными антителами к IgG кролика (Cloud-Clone Corp., Китай). Визуализацию иммунопозитивного материала выполняли с использованием 3,3'-диаминобензидина, после чего проводили контрастное окрашивание гематоксилином ядер клеток. Для подтверждения работоспособности антител и характера окрашивания в качестве положительного контроля использовали срезы фиброзно измененной ткани печени. Отрицательный контроль выполняли путем замены первичных антител на фосфатно-солевой буфер.

Количественную оценку экспрессии маркера TGF- β 1 проводили при помощи световой микроскопии и системы автоматической идентификации клеток и сегментации программы QuPath версии 0.6 (Queen's University Belfast, Великобритания). Подсчитывали долю TGF- β 1 положительных клеток в 5 полях зрения участков коркового и мозгового вещества почки. Результат выражали в процентах. Для разделения уровней экспрессии использовался метод медианы. Все поля зрения, в которых осуществляли подсчет были ранжированы по значениям средней оптической плотности в QuPath, результатом стало выделение двух групп: слабоположительные и сильноположительные.

¹ Федулова М. В., Куприянов Д. Д. Результаты экспериментального применения антител к TGF- β 1 для иммуногистохимической оценки прижизненности повреждений // Судебно-медицинская экспертиза. 2023. Т. 66, № 5. С. 43–46. DOI: <https://doi.org/10.17116/sudmed20236605143>.

Статистический анализ полученных результатов проводили в LibreOffice Calc (The Document Foundation, Германия). Поскольку данные не соответствовали требованиям нормальности и содержали выбросы, для описания и сравнения групп был использован непараметрический критерий Краскела — Уоллиса.

Результаты

Моделирование патологического старения путем изолированного или совместного введения H_2S и CsA сопровождалось структурными изменениями в почках, выявленных при морфологическом и иммуногистохимическом анализе.

В контрольной группе наблюдалось сохранение гистоархитектоники клубочков и канальцев почек, а также интерстициальной ткани, выявлялась нормальная структура эпителиальной выстилки без признаков воспаления или некроза. Общее окрашивание на TGF- $\beta 1$ было незначительным и слабopоложительным. Оно чаще всего затрагивало эпителий проксимальных извитых канальцев (рис. 1, б; рис. 2, в), отдельные клетки капсулы клубочка (рис. 1, б; рис. 2, б), тромбоциты и/или эритроциты в просвете мелких сосудов (рис. 1, в; рис. 2, в).

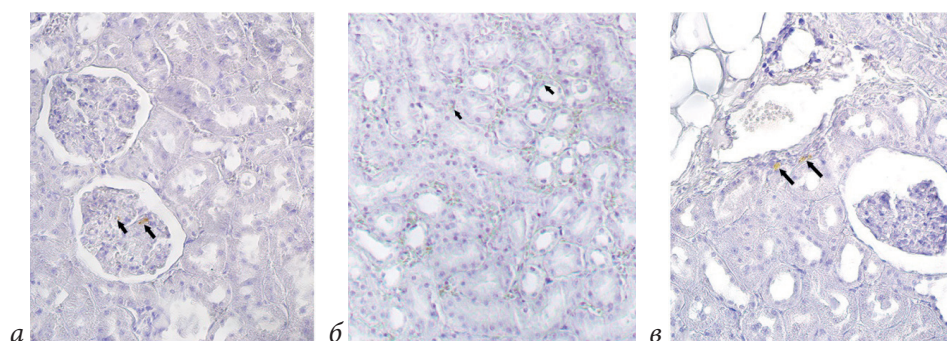


Рис. 1. Иммуногистохимическая окраска на TGF- $\beta 1$ (положительные клетки указаны стрелками), $\times 200$:

а — в клетках мезангия клубочков; б — эпителии канальцев;
в — интерстиции крыс контрольной группы

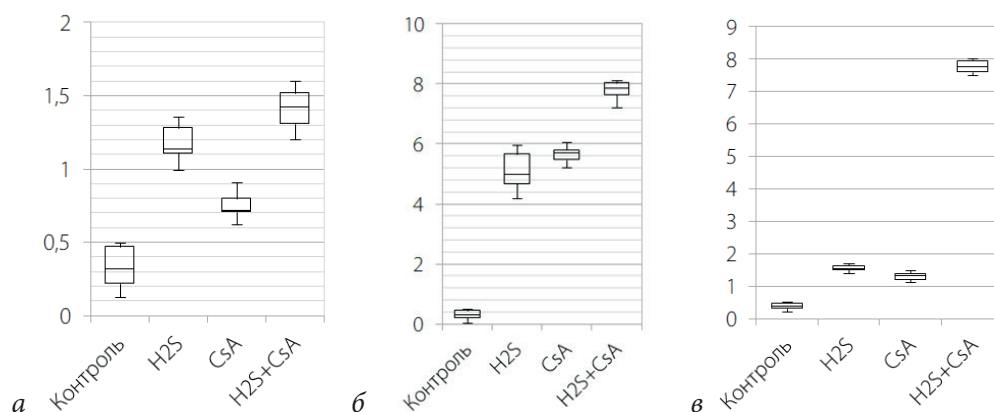


Рис. 2. Доля TGF- $\beta 1$ позитивных клеток в контрольных

и опытных группах воздействия H_2S , CsA и комбинированно $H_2S + CsA$:

а — в почечных клубочках крыс; б — в канальцах нефрона лабораторных крыс;
в — в интерстициальной ткани лабораторных крыс в контрольных
и опытных группах воздействия H_2S и CsA

В группах, получавших исключительно H_2S или CsA, отмечалось незначительное расширение канальцев, в отдельных случаях с наличием белкового детрита в их просвете, более характерным у крыс, получавших CsA. В группе, получавшей H_2S , наблюдался умеренный интерстициальный отек, локализованный преимущественно в перигломерулярной зоне. В группе CsA имели место локальный тубулоинтерстициальный фиброз, очаги воспалительной инфильтрации (рис. 3, б; рис. 4, б).

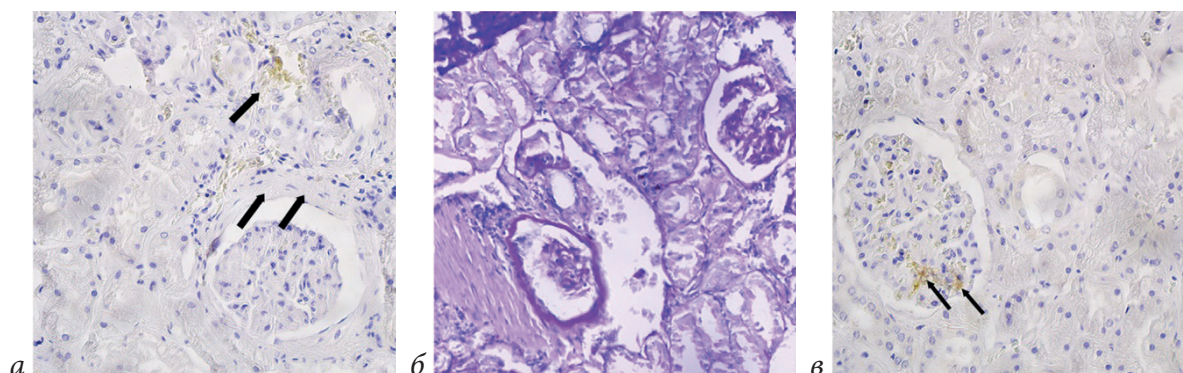


Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание на TGF-β1 (стрелками указаны положительно окрашенные клетки в утолщенной капсуле Шумлянского — Боумана), группа H_2S (а), $\times 200$. ШИК-реакция: диффузное расширение мезангиального матрикса и утолщение капсулы клубочка, группа CsA (б), $\times 200$. Иммуногистохимическое окрашивание на TGF-β1 (стрелками указаны иммунопозитивные эритроциты и активированные тромбоциты в просвете интерлобулярных артериол), группа комбинированного воздействия (в), $\times 200$

Как изолированное воздействие H_2S , так и CsA вызывало увеличение доли TGF-β1 иммунопозитивных клеток в паренхиме почек (табл. 1).

Таблица 1

Доля TGF-β1-положительных клеток (%) в почках лабораторных крыс в контрольных и опытных группах воздействия сероводородом и циклоспорином, Ме [Q1; Q3]

Группа	Клубочки	Канальцы	Интерстиций
Контрольная группа (n = 11)	0,32 [0,22; 0,47]	0,31 [0,22; 0,45]	0,37 [0,32; 0,48]
H_2S (n = 11)	1,14 [1,11; 1,28] *	4,97 [4,68; 5,66] *	1,55 [1,52; 1,64] *
CsA (n = 11)	0,72 [0,71; 0,80] *	5,71 [5,47; 5,81] *	1,32 [1,21; 1,39] *
H_2S + CsA (n = 11)	1,42 [1,31; 1,52] *	7,86 [7,64; 8,03] *	7,77 [7,61; 7,95] *

Примечание: Ме — медиана.

Доля TGF-β1-иммунопозитивных клеток в клубочках увеличивалась незначительно после воздействия CsA (медиана = 0,72 % [0,71–0,80]), и статистически не отличалась от контроля ($p = 0,42$). При комбинированном воздействии доля TGF-β1 иммунопозитивных клеток была в 2,88 раза выше ($p < 0,05$). Среди положительных к TGF-β1 клеток в пределах почечного тельца преобладала цитоплазматическая локализация белка. Морфологически во всех группах наблюдались отдельные склерозированные клубочки, что отражает типич-

ные сенильные изменения паренхимы у крыс старше 18 месяцев. Наиболее выраженные изменения были в группе действия H_2S : они сопровождались гипертрофией и увеличением толщины мембраны капсулы Шумлянско-го — Боумана (рис. 3, а). В группе комбинированного воздействия H_2S и CsA наблюдались иммунопозитивные эритроциты и активированные тромбоциты в просвете интерлобулярных артериол (рис. 3, б).

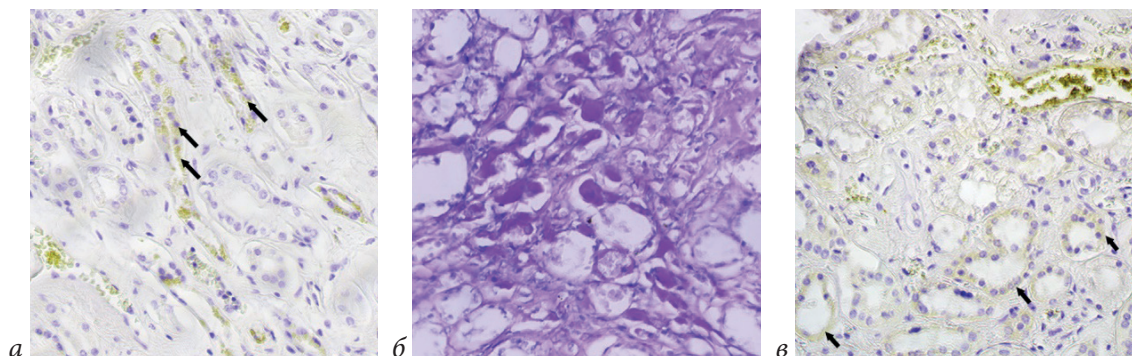


Рис. 4. TGF- β 1-позитивный материал в цитоплазме эпителия петли нефрона и дистальных извитых канальцев нефрона (указано стрелками), группа H_2S (а), $\times 200$. ШИК-реакция: утолщение базальных мембран почечных канальцев и аморфный белковый детрит в их просвете, группа CsA (б), $\times 200$. Слабоположительная окраска канальцев коркового вещества, собирательных трубочек (указано стрелками), некроз канальцев почек, группа комбинированного воздействия (в), $\times 200$

При микроскопическом исследовании почечных клубочков образцов комбинированного воздействия обнаружено расширение мезангиального матрикса и просвета канальцев, интерстициальный отек, скопление белка в просвете канальцев. В проксимальных отделах нефрона у одних животных появились признаки локального некроза, а у других — выявлялся фокальный сегментарный гломерулосклероз (рис. 5).

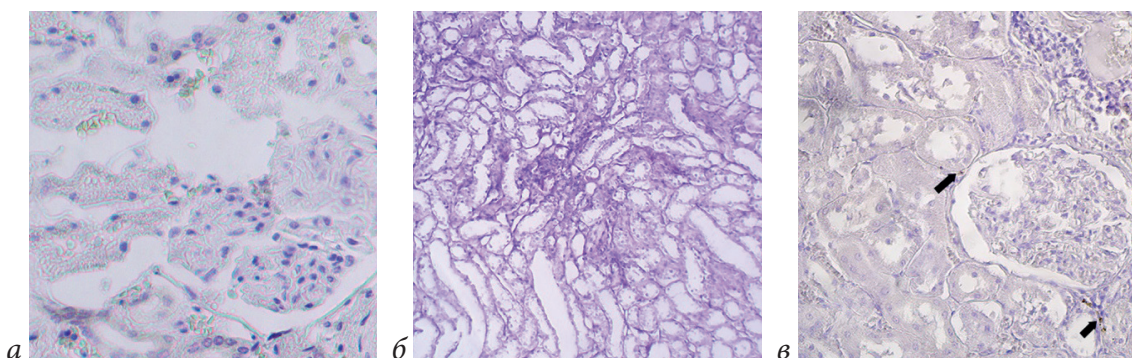


Рис. 5. Интерстициальный отек перигломерулярной зоны, группа H_2S (а), $\times 400$.

ШИК-реакция: расширение канальцев мозгового слоя, умеренный интерстициальный фиброз и разрастание соединительной ткани, группа CsA (б), $\times 200$. Иммуногистохимическое окрашивание на TGF- β 1: положительная реакция в миофибробластах коркового вещества в перигломерулярной зоне (указана стрелками); отмечена гломеруломегалия (в), $\times 200$

Локализация TGF- β 1-позитивного материала в проксимальных извитых канальцах почек вне зависимости от группы и условий приходилась на цитоплазму, представляя локаль-

ные скопления разной интенсивности и плотности. При воздействии H_2S (рис. 4, а), CsA (рис. 4, б) или их комбинации (рис. 4, в) — доля сероводорода, экспрессия TGF- β 1-позитивных клеток в почечных канальцах возрастала в 6,86 раза, 7,23 раза и 13,48 раза соответственно (все $p < 0,05$). В комбинированной группе отмечено увеличение доли TGF- β 1-иммунорепозитивных клеток в клубочках в 4,4 раза ($p < 0,05$), что согласуется с хорошо известной профибротической ролью этого цитокина в мезангиальных клетках клубочков.

Повышенный уровень TGF- β 1 по данным иммуногистохимического анализа и количество положительных клеток при воздействии H_2S увеличивалось в 1,89 раза, при воздействии CsA — в 1,54 раза, при комбинированном воздействии — в 9,15 раза (все $p < 0,05$). Сверхфизиологическое воздействие H_2S (рис. 5, а), в особенности комбинированное действие H_2S и иммунодепрессанта (рис. 5, в), активно вовлекало интерстиций в патологические процессы, вызывая отек, локальный некроз, выраженный фиброз и дилатацию микрососудистого русла (рис. 5, б).

Обсуждение

Иммуногистохимический анализ гистологических препаратов выявил увеличение числа TGF- β 1 положительных клеток в петле нефрона, дистальных извитых канальцах и собирательных трубочках, что указывает на преимущественную локализацию начала фибротических процессов в канальцах нефрона. При комбинированном воздействии H_2S и CsA паренхима почки подвергается наиболее выраженной деградации: интенсификация интерстициального фиброза, выраженный некроз эпителия канальцев, склероз клубочков и компенсаторная гипертрофия сохранных нефронов — все эти признаки прогрессирующего поражения, некоторые из которых частично модулируются TGF- β 1.

Эти наблюдения подчеркивают ключевой момент: одновременное применение H_2S и CsA многократно усиливает TGF- β 1 зависимые пути по сравнению с моновоздействием, создавая условия для фибротического ремоделирования паренхимы. Прогрессирующее накопление TGF- β 1 позитивных клеток в канальцах и интерстиции нефронов коррелирует с ускорением клеточного старения, при этом TGF- β 1 выступает как инициатор, так и поддерживающий компонент SASP, что согласуется с данными о его роли в патогенезе фиброза [25, 26].

Гипотеза, основанная на концепции клеточной сенесценции, предоставляет последовательную механистическую основу для интерпретации наших наблюдений. Известно, что хроническое воздействие CsA приводит к повреждению митохондрий и образованию активных форм кислорода, запуская сенесценцию эпителия канальцев через механизм окислительного стресса [25]. H_2S , хотя традиционно рассматривается как цитопротектор, может модулировать процессы сенесценции посредством окислительно-восстановительно-зависимых посттрансляционных модификаций, таких как S-сульфогидратация ключевых сигнальных молекул [26]. В присутствии циклоспорина А H_2S может дополнительно усиливать окислительный стресс и стабилизировать комплекс Smad, передающий сигналы TGF- β 1.

Важно отметить, что TGF- β 1 является известным индуктором сенесценции в клетках почечных канальцев [27] и центральным компонентом SASP, ассоциированного со старением, который включает и секрецию профибротических цитокинов, стимулирующих формирование белков внеклеточного матрикса. Таким образом, повышение уровня интерстициального TGF- β 1 в группе комбинированного воздействия, вероятно, отражает выраженный SASP, исходящий от сенесцентных фибробластов и эпителия канальцев, что усиливает фиброгенез в корковом и мозговом веществе почек.

В почечных клубочках, хотя и выявлялись менее выраженные изменения по сравнению с канальцами и интерстицием, также показано устойчивое увеличение доли TGF- β 1-позитивных клеток, в особенности в группе комбинированного воздействия. Это, вероятно, связано с относительно короткими сроками эксперимента, поскольку фиброз клубочков обычно развивается в ответ на деградацию проксимальных и дистальных канальцев нефрона. Незначительное увеличение, наблюдаемое при изолированном воздействии H₂S ($\approx 1,1$ – $1,3$ %), позволяет предположить, что H₂S может повышать чувствительность мезангиальных клеток клубочков к стимулам, вызывающим сенесценцию, возможно, за счет повышения экспрессии p21 и p16 через сигнальный путь Smad [15]. Напротив, воздействие CsA вызывает лишь статистически неразличимое от контроля увеличение доли TGF- β 1 в мезангии клубочков ($p = 0,42$), что согласуется с представлением о том, что повреждение канальцев предшествует фиброзу клубочков при нефротоксичности CsA [28].

В совокупности полученные данные указывают на то, что комбинированное применение донора H₂S и CsA сопровождается усилением экспрессии TGF- β 1 и развитием профибротических изменений в почечной ткани. Поскольку TGF- β 1/Smad-сигнализация ассоциирована с регуляцией клеточной сенесценции и секрецией провоспалительных факторов, полученные результаты позволяют предположить участие сенесценции-ассоциированных механизмов в формировании фиброза паренхимы почки.

В дополнение для установления причинно-следственной связи между уровнем TGF- β 1 и индукцией фиброгенеза необходимо применение фармакологической блокады пути Smad, а изучение всего спектра SASP-факторов позволит дать исчерпывающую оценку роли этой сигнальной системы в развитии почечной сенесценции.

Заключение

В ходе исследования показано, что применение донора H₂S и CsA, особенно в комбинации, сопровождается достоверным повышением экспрессии TGF- β 1 и развитием профибротических изменений в почечной ткани крыс. Наиболее выраженный эффект комбинированного воздействия проявлялся в увеличении доли TGF- β 1-позитивных клеток в эпителии проксимальных и дистальных канальцев (более чем в 13 раз) и в интерстиции (более чем в 9 раз) по сравнению с контролем, что коррелировало с морфологическими признаками тубулоинтерстициального фиброза, отека и повреждения эпителия.

Выявленные морфологические изменения — утолщение базальных мембран, расширение мезангиального матрикса, фокальный сегментарный гломерулосклероз — согласуются с известной профибротической ролью TGF- β 1. Учитывая, что сигнальный путь TGF- β 1/Smad может быть вовлечен в регуляцию клеточной сенесценции и продукции провоспалительных факторов, полученные данные позволяют предположить участие сенесцентно-ассоциированных механизмов в формировании фиброза. Вместе с тем, в рамках настоящего исследования не оценивались прямые маркеры сенесценции (β -галактозидаза, p16Ink4a, p21), поэтому выводы о стимуляции сенесцентного фенотипа требуют дополнительной верификации.

Таким образом, TGF- β 1, вероятно, играет важную роль в реализации профибротического ответа при комбинированном воздействии донора H₂S и CsA. Результаты подчеркивают потенциальную значимость TGF- β 1-зависимых механизмов в патогенезе токсического поражения почек и открывают перспективы для дальнейших исследований, включая оценку маркеров клеточной сенесценции и изучение терапевтических подходов, направленных на модуляцию фиброгенных путей.

Список источников | References

1. Buyan MI, Andrianova NV, Plotnikov EYu. Age-related changes and loss of renal tissue resistance to damage: the role of reducing the number of kidney progenitor cells during aging. *Problems of geroscience*. 2023;3:127–133 (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.37586/2949-4745-3-2023-127-133>.
2. Kaplunova OA. Age features of human renal arterial vessels. *Medical Herald of the South of Russia*. 2019;4:51–58 (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.21886/2219-8075-2019-10-4-51-58>.
3. Anikonova LI, Vorobyeva OA, Bakulina NV. ATTR amyloidosis — a systemic disease involving the kidneys. *Nephrology and Dialysis*. 2022;24(3):441–456 (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.28996/2618-9801-2022-3-441-456>.
4. Sentyabreva AV, Tsvetkov IS, Makarova OV, Kosyreva AM. Morphological characteristics of internal organs of sexually mature and old male Wistar rats with long-term consumption of aluminum chloride. *Morphological Bulletin*. 2025;33(2):id–950 (In Russ.). EDN: <https://elibrary.ru/SXGKGD>.
5. Shkuratova IA, Drozdova LI, Petrova IM, Khatsko SL, Bytov M. V. Sokolova OV. Age-related aspects of structural and functional degeneration of chicken organ tissues under industrial conditions. *Agricultural Scientific Journal*. 2025;2:108–116 (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.28983/asj.y2025i2pp108-116>.
6. Herranz N, Gil J. Mechanisms and functions of cellular senescence. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(4):1238–1246. DOI: <http://doi.org/10.1172/JCI95148>.
7. Bednov IA, Shur VYu, Trizno EV, Davydova DR, Trizno MN, Rstakyan AR. Pathophysiological mechanisms of age-related vascular changes and potential correction pathways. *International journal of medicine and psychology*. 2023;6(2):54–67. EDN: <https://elibrary.ru/CCUKZM>.
8. Buret AG, Allain T, Motta JP, Wallace JL. Effects of Hydrogen Sulfide on the Microbiome: From Toxicity to Therapy. *Antioxid Redox Signal*. 2022;36(4–6):211–219. DOI: <http://doi.org/10.1089/ars.2021.0004>.
9. Lu QB, Ding Y, Fu X, Sun HJ, Zhang JR. Hydrogen sulfide in health and diseases: cross talk with non-coding RNAs. *American Journal of Physiology — Cell Physiology*. 2023;324(4):C856–C877. DOI: <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00507.2022>.
10. Kimura H. Hydrogen sulfide (H₂S) and polysulfide (H₂Sn) signaling: The first 25 years. *Biomolecules*. 2021;11(6):896. DOI: <http://doi.org/10.3390/biom11060896>.
11. Muñoz-Espín D, Cañamero M, Maraver A, Gómez-López G, Contreras J, Murillo-Cuesta S, et al. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell*. 2013;155(5):1104–1118. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.019>.
12. Evangelou K, Gorgoulis VG, Sudan Black B, The specific histochemical stain for lipofuscin: A novel method to detect senescent cells. *Methods in Molecular Biology*. 2017;1534:111–119. DOI: http://doi.org/10.1007/978-1-4939-6670-7_10.
13. Papageorgis P. Complex interplay between aging and cancer: Role of TGF- β -signaling. *Critical Reviews in Oncogenesis*. 2017;22:313–321. DOI: <http://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2017025134>.
14. Wu J, Niu J, Li X, Wang X, Guo Z, Zhang F. TGF-1 induces senescence of bone marrow mesenchymal stem cells via increase of mitochondrial ROS production. *BMC Developmental Biology*. 2014;14:21. DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-213X-14-21>.
15. Li J, Zou Y, Kantapan J, Su H, Wang L, Dechsupa N. TGF- β /Smad signaling in chronic kidney disease: exploring post-translational regulatory perspectives (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2024;30(2):143. DOI: <http://doi.org/10.3892/mmr.2024.13267>.
16. Thomas HY, Ford Versypt AN. A mathematical model of glomerular fibrosis in diabetic kidney disease to predict therapeutic efficacy. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1481768. DOI: <http://doi.org/10.3389/fphar.2024.1481768>.
17. Sun H, Ke C, Zhang L, Tian C, Zhang Z, Wu S. Long non-coding RNA (LncRNA)-ATB promotes inflammation, cell apoptosis and senescence in transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) induced human kidney 2 (HK-2) cells via TGF β /SMAD2/3 signaling pathway. *Medical Science Monitor*. 2020;26:e922029. DOI: <http://doi.org/10.12659/MSM.922029>.
18. Trizno EV. Prosensitizing effect of hydrogen sulfide in rat kidneys university proceedings. Volga region. *Medical sciences*. 2023;4(68):221–230. DOI: <http://doi.org/10.21685/2072-3032-2023-4-22>.
19. Golovackaya LI, Trizno MN, Golubkina EV, Trizno NN, Dyukareva OS. Study of the mechanism of competitive inhibitory action of methionine against the toxic effect of hydrogen sulfide in vivo based on molecular systems modelling. *Atherosclerosis and dyslipidemias*. 2022;3(48):14–20. DOI: <http://doi.org/10.34687/2219-8202.jad.2022.03.0002>.
20. Trizno EV, Mazhitova MV, Trizno MN, Davydova DR, Rstakyan AR, Hachatrian GS. Modification of the immune system with hydrogen sulfide and cyclosporine A. *International journal of medicine and psychology*. 2024;7(3):6–15. DOI: <http://doi.org/10.58224/2658-3313-2024-7-3-6-15>.
21. Trizno EV, Bednov IA, Trizno MN, Davydova DR, Rstakyan AR. Immunity and hemostasis system indicators in age groups of laboratory rats during the use of cyclosporine A. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2023;4:60–65. DOI: <http://doi.org/10.14427/jipai.2023.4.60>.

22. Alqahtani S, Alqahtani T, Venkatesan K, Sivadasan D, Ahmed R, Sirag N., et al. SASP modulation for cellular rejuvenation and tissue homeostasis: Therapeutic strategies and molecular insights. *Cells*. 2025;14(8):608. DOI: <http://doi.org/10.3390/cells14080608>.
23. Kim HS, Choi S-I, Jeung E-B, Yoo Y-M. Cyclosporine A induces apoptotic and autophagic cell death in rat pituitary GH3 cells. *PLOS One*. 2014;9(10):e108981. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108981>.
24. Liu QF, Ye JM, Yu LX, Dong XH, Feng JH, Xiong Y et al. Klotho mitigates cyclosporine A (CsA)-induced epithelial–mesenchymal transition (EMT) and renal fibrosis in rats. *International Urology and Nephrology*. 2017;49:345–352. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1439-0>.
25. Wu Q, Wang X, Nepovimova E, Wang Y, Yang H, Kuca K. Mechanism of cyclosporine A nephrotoxicity: Oxidative stress, autophagy, and signalings. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;118:889–907. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.054>.
26. Chen HJ, Qian L, Li K, Qin YZ, Zhou JJ, Ji XY, et al. Hydrogen sulfide-induced post-translational modification as a potential drug. *Genes and Diseases*. 2022;10(5):1870–1882. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.03.022>.
27. Ueda S, Tominaga T, Ochi A, Sakurai A, Nishimura K, Shibata E, et al. TGF- β 1 is involved in senescence-related pathways in glomerular endothelial cells via p16 translocation and p21 induction. *Scientific Reports*. 2021;11:21643. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41598-021-01150-4>.
28. Trizno MN, Kurtusunov BT, Trizno EV, Mazhitova MV. Detection of visceral organ cells hyporesponsive to lipofuscinogenesis. *Modern Problems of Science and Education*. 2024;(3):48. DOI: <http://doi.org/10.17513/spno.33499>.

Информация об авторах

Екатерина Валерьевна Тризно ✉ — кандидат медицинских наук, доцент; доцент кафедры патологической физиологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия.

E-mail: neiron-2010@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6328-3317>

Матвей Николаевич Тризно — кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия.

E-mail: pakotm@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8704-6594>

Валерий Валерьевич Новочадов — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биологии и биоинженерии, институт естественных наук, Волгоградский государственный университет, Волгоград, Россия.

E-mail: novovv@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6317-7418>

Information about the authors

Ekaterina V. Trizno ✉ — Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor; Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

E-mail: neiron-2010@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6328-3317>

Matvey N. Trizno — Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Department of Anatomy, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

E-mail: pakotm@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8704-6594>

Valery V. Novochadov — Doctor of Sciences (Medicine), Professor; Professor of the Department of Biology and Bioengineering, Institute of Natural Sciences, Volgograd State University, Volgograd, Russia.

E-mail: novovv@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6317-7418>

Рукопись получена: 26 февраля 2026. Одобрена после рецензирования: 23 июня 2026. Принята к публикации: 30 июля 2026.

Received: 26 February 2026. Revised: 23 June 2026. Accepted: 30 July 2026.