

# Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

## 1 ЗНАЧЕНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ СТРУКТУРЫ КОЖИ

### А. Строение кожи

Кожа человека состоит из трех слоев: наружного – эпидермиса (многослойного плоского ороговевающего эпителия), среднего – двухслойной дермы и внутреннего – гиподермы, состоящей преимущественно из жировых клеток (рис. 1) [1, 2].

**Эпидермис** – *наружный слой кожи* – прочно связан с подлежащей дермой посредством базальной мембраны, которая служит опорой для клеток и регулирует поступление питательных веществ из сосудов в клетки и удаление продуктов клеточного метаболизма. Структура базальной мембраны определяется взаимодействием клеток эпидермиса – кератиноцитов – и клеток дермы – фибробластов. Кератиноциты вырабатывают и организуют коллагены IV и VII типов, ламинины и перлекан [3]. Фибробласты, расположенные на границе дермы и эпителия, вырабатывают коллагены IV и VII типов, гликопротеины, ламинин-1 и энтактин/нидоген.

**А. Зорина**, кандидат медицинских наук, главный врач,

**В. Зорин**, кандидат биологических наук, руководитель отдела,

**В. Черкасов**, кандидат химических наук, заведующий лабораторией клеточных технологий,

Институт стволовых клеток человека, отдел регенеративной медицины, Москва, Россия

При этом ключевую роль в данном процессе играют фибробласты папиллярного слоя дермы [1].

*Внутренний слой кожи – гиподерма* – состоит из долек зрелых адипоцитов, которые отделены друг от друга тонкими слоями соединительной ткани, заполняющей междольковое пространство. Через эти структуры проходит развитая сосудистая сеть, состоящая из артерий, вен, капилляров, лимфатических сосудов и нервов, которые осуществляют трофику ткани. Этот слой выполняет роль механической опоры кожи и обеспечивает ее терморегуляцию [4].

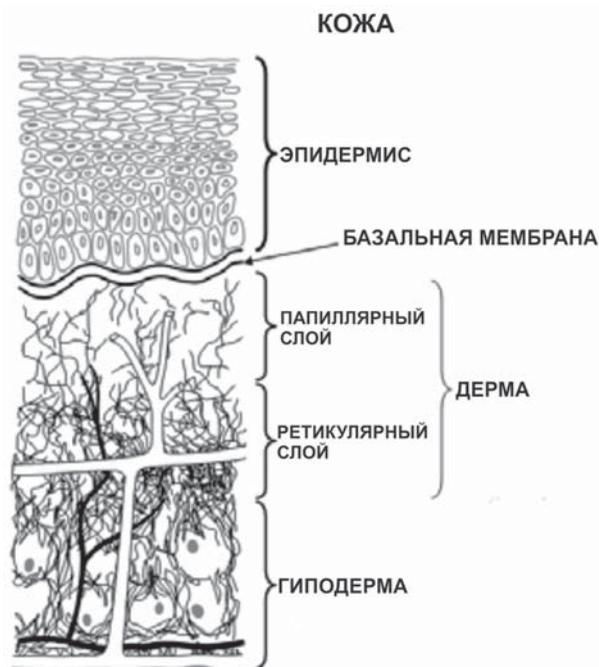


Рис. 1. Строение кожи (по P. Stephens, P. Genever, 2007) [4]

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

Средний слой кожи – дерма – обеспечивает коже структурную поддержку и состоит преимущественно из межклеточного матрикса (МКМ), который, в свою очередь, представлен различными типами белков (табл. 1).

Все эти белки продуцируются основным клеточным типом дермы – фибробластами [1]. Биосинтетические потенции фибробластов чрезвычайно велики: одна дифференцированная клетка в активном состоянии способна произвести до 3,5 млн макромолекул проколлагена в сутки [4].

Наиболее значимым белком кожи является коллаген I типа, который составляет 80–90% ее сухого веса. Коллаген IV типа составляет основную часть базальной мембраны эпидермальной зоны, сосудов и придатков кожи. Коллаген VII типа формирует прикрепляющие фибриллы

**ТАБЛ. 1. КОМПОНЕНТЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ ДЕРМАЛЬНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ ЧЕЛОВЕКА (ZOUVOULIS C. ET AL., 2008) [5], ДОПОЛНЕНА АВТОРАМИ)**

<i>Класс веществ</i>	<i>Основные представители</i>
<i>Коллаген</i>	<i>Коллагены типов I, III, IV, V, VI, VII</i>
<i>Гликопротеины</i>	<i>Фибронектин, фибриллин, тромбоспондин, ламинин, тенасцин</i>
<i>Гликозаминогликаны</i>	<i>Гиалуроновая кислота, гепарансульфат, хондроитинсульфат</i>
<i>Протеогликаны</i>	<i>Версикан, декофин</i>
<i>Белки, модифицирующие матрикс</i>	<i>Матриксные металлопротеиназы, тканевой ингибитор металлопротеиназы</i>
<i>Цитокины</i>	<i>IL-1, 6, 10, TNF<math>\alpha</math></i>
<i>Факторы роста</i>	<i>TGF<math>\beta</math>, CSF-1, GM-CSF, PDGF, bFGF, IGF-1,2, NGF, KGF, HGF, SCF, VEGF</i>
<i>Хемокины</i>	<i>IL-8, MCP-1, GRO-1, MIP-1,2, RANTES, ENA-78</i>
<i>Медиаторы воспаления</i>	<i>Фосфолипаза-A2, PGE2, простагландин, HETE, PAF, NO</i>

папиллярного слоя дермы, VI типа – пронизывает всю дерму в виде сетки [5]. Фибриллярные (волоконнообразующие) коллагены I, III и V типов организуются в большие поперечно связанные коллагеновые волокна, формирующие трехмерную структурную сеть дермы и во многом определяющие биомеханические свойства кожи [6, 7]. Уникальные биомеханические свойства этих коллагенов обеспечивают коже структурную целостность. Основной каркас дермы формируют волокна, состоящие из коллагенов I и III типов, соотношение их в коже изменяется с возрастом [8]. Коллаген III типа представляет собой главный интерстициальный коллаген человека в эмбриональном и раннем постнатальном периоде. После рождения продукция коллагена I типа начинает превалировать над продукцией коллагена III типа и их соотношение во взрослой коже составляет уже 6:1 [9]. Помимо коллагена фибробласты продуцируют также и другие фибриллярные компоненты матрикса (эластин, фибриллин), структурные белковые компоненты основного вещества МКМ – гликопротеины и протеогликаны, – а также ферменты, участвующие в посттрансляционном процессинге структурных белков и катаболических реакциях [4].

В дерме выделяют два слоя, разделенных капиллярной сетью, – папиллярный и ретикулярный (см. рис. 1). Как в папиллярном, так и в ретикулярном слое основными производителями МКМ служат фибробласты. Интересно, что дермальные фибробласты, находящиеся в одном и том же участке дермы, но в разных ее слоях, выполняют различные специфические функции, благодаря чему каждый из слоев дермы имеет особенности в составе и организации компонентов МКМ. Так, папиллярный слой дермы характеризуется тонкими, плохо организованными тяжами коллагеновых волокон I и III типов, в то время как ретикулярный слой – толстыми, хорошо организованными тяжами. При этом в папиллярном слое коллагена III типа содержится больше, чем в ретикулярном.

Стабильные различия в экспрессии ряда белков МКМ выявлены также и в культурах фибробластов папиллярного (ФП) и ретикулярного слоев (ФР). Mine S. et al. (2008), исследуя культуры фибробластов посредством клонального анализа, обнаружили более высокую скорость удвоения клеточных популяций фибробластов папиллярного слоя по сравнению с фибро-

бластами ретикулярного слоя, полученными из одного и того же участка кожи [10]. По всей видимости, фибробласты папиллярного и ретикулярного слоев дермы представляют собой разные популяции клеток, поскольку существуют различия в их морфологии, скорости деления, продукции МКМ и факторов роста/цитокинов. Предполагается, что такое разнообразие фибробластов дермы продиктовано влиянием ряда факторов, в частности генов семейства AP-1, homeobox-генов, регуляторов этих генов, а также компонентов прилегающего эпидермиса [1].

Клеточный компонент кожи помимо фибробластов представлен рядом других клеток – эпидермальных, эндотелиальных, нейтральных и клеток гематопоезического происхождения. Клетки, входящие в состав кожи, образуют тесные межклеточные взаимодействия путем прямых контактов и продукции различных сигнальных молекул, что обеспечивает структурно-функциональное единство кожи [11]. Ключевую же роль в регуляции физиологических параметров кожи играют именно фибробласты [1]. Они не только участвуют в синтезе ростовых факторов/цитокинов/хемокинов, матричных металлопротеиназ, продукции и организации МКМ дермы, но и взаимодействуют друг с другом и с клетками других типов, оказывая значительное влияние на функции всех клеток кожи [4, 12–14]. Дермальные фибробласты создают две «ниши»: физическую (МКМ), необходимую для функционирования клеток дермы, и биохимическую (факторы роста/цитокины/хемокины), посредством которой регулируют рост, дифференцировку и функциональную активность клеток дермы.

## **Б. Функции дермальных фибробластов**

Основные функции фибробластов кожи – продукция, организация, обновление межклеточного матрикса, регуляция процесса воспаления, участие в заживлении ран и регуляция дифференцировки эпидермиса [15–17].

Дермальные фибробласты синтезируют основные компоненты МКМ (см. табл. 1). Являясь важным источником металлопротеиназ, расщепляющих компоненты МКМ, они регулируют самообновление МКМ и обеспечивают его гомеостаз [18]. За счет секреции факторов роста, таких, как KGF-1 (фактора роста

кератиноцитов), GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора роста), интерлейкинов IL-6, IL-8, и непосредственного взаимодействия с эпителиальными клетками дермальные фибробласты играют ключевую роль в регуляции эпидермального морфогенеза. Продуцируя коллаген IV типа и ламинин, фибробласты влияют на формирование базальной мембраны [19–21]. Продуцируя и организуя коллагены, эластин, гликопротеины и протеогликаны, фибробласты обеспечивают опорно-механическую функцию кожи. Продуцируя сигнальные молекулы, влияющие на проницаемость сосудистых стенок и метаболизм, осуществляют трофическую функцию.

Дермальные фибробласты активно участвуют в ангиогенезе: продуцируя множество проангиогенных факторов (таких, как VEGFs, FGFs, TGF- $\beta$ 1, HGF/SF и ангиопоэтин-1), которые индуцируют дифференцировку и миграцию эндотелиальных клеток, они способствуют образованию и стабилизации сосудов [22, 23].

Фибробласты играют важную роль в поддержании иммунитета кожи. Larsen C.G. et al. (1989) продемонстрировали ключевую роль дермальных фибробластов в реализации механизмов взаимодействия иммунокомпетентных клеток [24]. В условиях *in vitro* показаны их иммуносупрессорные и иммуномодулирующие свойства. В 1981 году J.H. Korn показал ингибирующее действие фибробластов на митогенез и пролиферацию Т-клеток [25]. Фибробласты синтезируют ряд ключевых посредников воспаления, одним из которых является фактор транскрипции RelB ядерного фактора kB семейства NF-kB, оказывают активирующее воздействие на тучные клетки (совместное культивирование дермальных фибробластов и мастоцитов сопровождается усилением продукции последними гистамина) [26]. По мнению Н.П. Омеляненко (2009), фибробласты можно рассматривать как «сторожевые» клетки, организующие ответы ткани на инфекцию или повреждение [4].

С другой стороны, фибробласты подвержены регуляторному влиянию со стороны других клеток дермы. В частности, цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками, стимулируют (TGF- $\beta$ , интерлейкин-1) и ингибируют ( $\gamma$ -интерферон) продукцию коллагена и фибронектина, снижают экспрес-

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

► сию протеаз (TGF- $\beta$ ), модулируют пролиферацию фибробластов (тромбоцитарный фактор роста) [27].

Фибробласты кожи принимают также участие в процессах нейроэндокринной регуляции кожи. Они способны синтезировать биологически активные пептиды – гормоны, биогенные амины, нейропептиды и нейротрансмиттеры, идентичные таковым в центральной нервной и эндокринной системах, пролактин, идентичный гипоталамическому, и гормон роста. Фибробласты кожи экспрессируют рецепторы андрогенов и эстрогенов, посредством которых осуществляется влияние этих гормонов на кожу человека.

Наряду с функциями в здоровой ткани, существенна роль дермальных фибробластов и в заживлении ран [16, 24]. Повреждение кожи сопровождается изменениями в структуре МКМ, механическим стрессом и воспалительными процессами в ране. Эти изменения приводят к активации фибробластов. Мигрируя к месту повреждения ткани, они дифференцируются в премиофибробласты, которые активно продуцируют коллаген и фибронектин и организуют МКМ, служащий каркасом для других клеток. В последующем премиофибробласты под влиянием специфических факторов (TGF- $\beta$ 1, EGF, PDGF, FGF2) и механического напряжения дифференцируются в миофибробласты, способствующие сокращению раны, и тем самым восстанавливают гомеостаз в поврежденной ткани. Миофибробласты посредством апоптоза элиминируются из места повреждения и замещаются фибробластами, которые инициируют образование коллагенового матрикса [1].

Анализируя вышеизложенное, можно заключить, что дермальные фибробласты представляют собой ключевое звено в биологии кожи, они не только поддерживают гомеостаз МКМ дермы, обеспечивая его ремоделирование и обновление, но также играют значительную роль в поддержании физиологического состояния других слоев кожи. Продуцируя такие факторы роста, как KGF-1, GM-CSF, интерлейкины IL-6, IL-8, и прямо взаимодействуя с эпите-

лиальными клетками, они играют ключевую роль в регуляции эпидермального морфогенеза. Вырабатывая коллагены IV и VII типов, гликопротеины, ламинин-1 и энтактин/нидоген, участвуют в организации базальной мембраны. Продуцируя проангиогенные факторы роста, такие, как VEGFs, FGFs, TGF- $\beta$ 1, HGF/SF и ангиопоэтин-1, способствуют образованию и стабилизации сосудов, тем самым поддерживая трофику всех слоев кожи, включая гиподерму. По мнению ведущих специалистов, дермальные фибробласты играют ключевую роль в физиологии кожи и благодаря своим уникальным свойствам представляют собой основу этой самой обширной ткани организма [1].

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

Дермальные фибробласты *in vivo* характеризуются пластичностью и разнообразием форм – могут иметь овальную, полигональную, веретеновидную или отростчатую форму (рис. 2) [4] в зависимости от своего функционального состояния. В культуре дермальные фибробласты обладают способностью прикрепляться к поверхности культуральной посуды и длительно сохранять пролиферативный потенциал [19, 24].

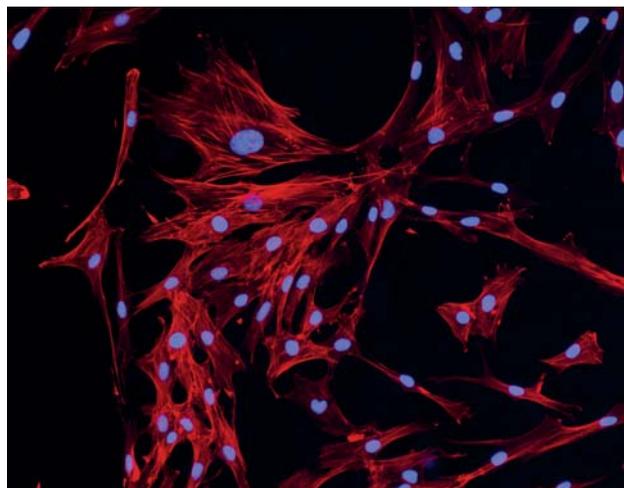


Рис. 2. Культура дермальных фибробластов человека. Флуоресцентная микроскопия, ув.  $\times 200$  (конъюгированный флуоресцентной меткой TRITC фаллоидин, специфично связывающий F-формы цитоскелета фибробластов, окраска ядер клеток – DAPI). Фото авторов

Имунофенотипическая характеристика фибробластов позволяет оценить их антигенный профиль и выявлять эти клетки как *in vivo*, так и *in vitro*. Так, дермальные фибробласты характеризуются экспрессией мезенхимных маркеров (CD90, CD73, CD105, CD44, vimentin) и отсутствием эпителиальных, гемопоэтических и эндотелиальных маркеров (CD31, CD34, CD45) [23, 28]. Имунофенотипической особенностью дермальных фибробластов является также экспрессия белков МКМ – фибронектина, эластина, коллагенов I, III, IV, V типов [28]. Несмотря на то что фибробласты дермы экспрессируют большое число клеточных антигенов, ни один из них не является эксклюзивным маркером для этой популяции клеток [18]. На сегодняшний день два маркера – белок FSP1 (член семейства внутриклеточных белков S100) и белок FAP (белок активации фибробластов) – считаются наиболее специфичными для идентификации фибробластов [18, 23, 29, 30], но они также не являются эксклюзивными для дермальных фибробластов. Отсутствие уникальных маркеров означает, что в настоящее время трудно выявить четкие функциональные различия между отдельными представителями обширной «семьи» фибробластов [8]. Поэтому проблема идентификации эксклюзивных клеточных маркеров дермальных фибробластов остается весьма актуальной.

### 3 РАЗНОРОДНОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ И ЕЕ ПРИЧИНЫ

Дермальные фибробласты представляют собой популяцию клеток, гетерогенность которой определяется двумя главными факторами [1, 31].

Первым фактором является **место локализации фибробластов в коже**. В дерме выделяют три субпопуляции фибробластов (см. рис. 2), из которых две локализуются в папиллярном и ретикулярном слоях дермы, причем каждая из них характеризуется собственными свойствами. Третья субпопуляция фибробластов ассоциирована с волосными фолликулами [32].

Вторым фактором, определяющим гетерогенность фибробластов, является их **положение в фибробластическом диффероне** – ряде клеток одной гистогенетической детермина-

ции, от наименее до терминально дифференцированной (рис. 3). Еще А.А. Максимов в 1927 году обратил внимание на наличие в соединительной ткани, наряду с дифференцированными формами, предшественников фибробластов [28]. А.Б. Шехтер (1978) по ультраструктурным признакам выделил 6 типов фибробластов. Два типа («малодифференцированные» и «юные») представлены незрелыми формами фибробластов, а четыре типа («коллагенобласты», «миофибробласты», «фиброкlastы» и «фиброциты») – зрелыми дифференцированными фибробластами [14]. Таким образом, популяция дермальных фибробластов как *in vivo*, так и *in vitro* представляет собой гетерогенную смесь клеток, различающихся по морфологии, молекулярно-генетическим характеристикам и потенциям к пролиферации и дифференцировке.

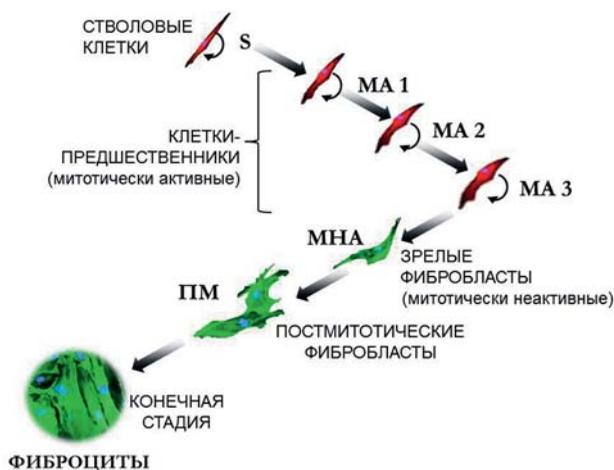


Рис. 3 Общая схема фибробластического дифферона дермы

Полученные в последние годы данные *in vitro* свидетельствуют о том, что дерма человека содержит большое количество разных клеточных популяций с мультипотентными характеристиками. Так, Young et al. (2001) выделили мультипотентные стволовые клетки из дермы человека разного возраста (зародыша, взрослого и старого человека) [33]. Все выделенные популяции содержат клетки-предшественники, способные при определенных условиях развиваться в миогенном, адипогенном, хондрогенном и остеогенном направлениях. Toma et al. (2001, 2005) идентифицировали и описали популяцию мультипотентных ство-

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

вых клеток дермы, так называемых «клеток-предшественников из кожи» (SKPs, skin-derived progenitor cells), экспрессирующих нестин, фибронектин, виментин и проявляющих сходство со способностью мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) дифференцироваться в мезодермальном и нейральном направлениях [34]. Были опубликованы и результаты многих других исследований, подтверждающих наличие в коже разных клеточных популяций с мультипотентными характеристиками [35–38].

Приведенные в литературе данные свидетельствуют о том, что дерма человека содержит большое количество разных клеточных популяций с мультипотентными характеристиками. Какова физиологическая роль такого изобилия стволовых клеток в дерме? Каковы иерархические взаимоотношения между этими клетками? (На сегодняшний день ученые обсуждают 2 гипотезы взаимодействия, в частности между SKPs и ММСК: 1) популяция SKPs является родоначальником ММСК и 2) обе популяции клеток независимо существуют в дерме, при этом ММСК генерируют клетки в мезодермальном направлении, а SKPs – клеточная популяция с более широкой потенциальной, включая дифференцировку, – и в нейральном [39].) Данные вопросы остаются открытыми и заставляют работать над ними ведущие лаборатории мира.

Интересно отметить, что F. Chen et al. (2007), исследовав с помощью клонального анализа дермальные фибробласты крайней плоти, показали, что они представляют собой разнородную популяцию, содержащую клетки-предшественники на разных стадиях дифференцировки [37]. В дерме человека выделяют две большие клеточные популяции: митотически активные фибробласты (МФ) и постмитотические фибробласты (ПМФ) [12, 31]. МФ, согласно результатам исследования их цитоморфологии, пролиферативного потенциала и способности синтезировать специфические цитокины и факторы роста (TGF- $\beta$  и KGF), разделяют на 3 типа клеточных популяций: МФ I, МФ II и МФ III [31]. При этом клеточный пул МФ I обладает самым высоким пролифератив-

ным потенциалом и проходит около 25–30 клеточных делений перед дифференцировкой в клеточную популяцию МФ II. Клеточный пул МФ II, в свою очередь, перед дифференцировкой в МФ III совершает около 15–20 клеточных делений. И наконец, клеточный пул МФ III перед дифференцировкой в ПМФ осуществляет уже лишь 5–8 клеточных делений.

Последний клеточный пул, характеризующийся отсутствием пролиферативной активности, по своим биохимическим характеристикам соответствует клеточной системе «дифференцированный фибробласт-фиброцит». В пересчете на клетку эта система по сравнению с клеточными популяциями МФ продуцирует в 5–8 раз больше общего коллагена и тем самым обеспечивает необходимое для поддержания морфофункциональной организации дермы корректное соотношение коллагенов I, III и V типов [5, 7]. Выяснилось, что в коже человека соотношение клеточных популяций «МФ/функциональные ПМФ» постоянно и составляет 2:1. Показано, что это соотношение не зависит от возраста человека [31].

Каковы же основные причины разнородности дермальных фибробластов?

Можно предположить, что в основе наблюдаемой фенотипической разнородности фибробластов лежит происхождение этих клеток из различных источников [28]. Одним из источников, вероятно, служит популяция предполагаемых эмбриональных эндогенных клеток-предшественников, которые появляются в дерме еще на стадии эмбриогенеза и сохраняют мультипотентность во взрослом организме [38]. Другим источником дермальных фибробластов, возможно, служит костный мозг [28]. Рассматривая последний вариант, ряд ученых предположили, что предшественники фибробластов через сосудистое русло мигрируют из костномозговых ниш в дерму. При этом они временно находятся в периваскулярной нише. По мере продвижения от стенки сосудов вглубь ткани большинство клеток дифференцируются, а некоторая их часть занимает периваскулярные ниши, пополняя местный тканевый резерв. Это клеточное движение сопровождается последовательной сменой тканевых ниш, в каждой из которых происходят закономерные процессы пролиферации и/или дифференцировки фибробластоподобных клеток. Существуют ли общие мезенхимные предшественники стволовых клеток для всего орга-

низма или эти предшественники являются тканеспецифичными? Приходится признать, что данный вопрос по-прежнему остается открытым.

Очевидно лишь, что дерма человека содержит различные популяции стволовых клеток и эти клетки с мультипотентными характеристиками определяют фибробластический дифференциал и неоднородность фибробластов. На сегодняшний день ясно, что имеющиеся в дерме мультипотентные стволовые клетки способны генерировать множество клеточных линий и могут быть рассмотрены в качестве альтернативного костному мозгу источника стволовых клеток, а соединительная ткань кожи – в качестве локального резервуара «взрослых» стволовых клеточных популяций, которые можно использовать в регенеративной медицине.

## 4 ЗНАЧЕНИЕ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В СТАРЕНИИ КОЖИ

Старение кожи, как и организма в целом, представляет собой сложный биологический процесс, в котором участвуют множество факторов, включая генетические, эпигенетические и факторы окружающей среды, наиболее значимым из которых является ультрафиолетовое облучение (УФО) [7, 23, 40, 41].

Выделяют два основных типа старения кожи: внутреннее (или хронологическое) и внешнее (или фотостарение). Каждый из них имеет свои клинико-морфологические особенности. Стареющая, но не подвергавшаяся длительному воздействию солнечных лучей кожа характеризуется истончением, снижением эластичности и упругости, бледностью, наличием тонких поверхностных морщин [42]. При фотостарении, которое может наблюдаться еще до появления признаков хронологического старения, кожа утолщается, грубеет, становится более сухой, в ней формируются глубокие морщины, телеангиэктазии, иррегулярные участки с нарушенной пигментацией и солнечные лентиго [43]. В отличие от хронологического старения, представляющего собой генетически детерминированный процесс, зависящий от прожитых лет, фотостарение напрямую зависит от степени воздействия УФО и генетически предопределенной степени пигментации кожи [44, 45]

и его зачастую рассматривают как ускоренный процесс хронологического старения [7]. Кожа открытых областей (лица, шеи, рук) подвергается воздействию окружающей среды, и происходящие в ней деструктивные процессы, вызванные, в частности, УФО, накладываются на процессы хронологического старения и тем самым ускоряют его развитие [46].

Несмотря на разную этиологию, оба типа старения имеют общие фундаментальные молекулярные механизмы, ассоциированные с нарушением гомеостаза основного структурного компонента кожи, составляющего 80–90% ее сухой массы, – коллагена [7, 41, 44, 47, 48]. Продукция коллагена у старых людей (80 лет и старше) по сравнению с его синтезом в коже молодых (18–29 лет) снижается примерно на 75% [47], а уровень деградации коллагена (как и при фотостарении) повышается на 75% [44]. Причем наблюдается параллельное снижение содержания коллагенов I и III типов и уменьшение соотношения количества коллагена III типа к количеству коллагена I типа, коррелирующее с возрастом человека [11].

Однократное воздействие УФО на кожу в средних дозах (до ее легкого покраснения) приводит к снижению продукции коллагена на 80% [49]. При этом возврат к норме наблюдается в течение 48–72 часов. При таком же, но неоднократном воздействии УФО подавление продукции коллагена продолжает оставаться на низком уровне в течение длительного времени. При хроническом действии УФО на кожу данные изменения становятся необратимыми [50]. Изменение структуры, организации и содержания коллагена дермы, наблюдающееся как при хронологическом, так и при фотостарении, приводит к нарушению опорного каркаса кожи и служит одной из основных причин образования морщин [7, 51–54].

Следует отметить, что в областях фотоповреждения к общим для обоих типов старения кожи признакам добавляются специфические изменения, развивающиеся в ответ на УФО, в частности массивный эластоз [4]. В поврежденной УФО коже наблюдается 4-кратное увеличение продукции эластина и значительное снижение экспрессии фибриллина-1 и входящих с ним в состав микрофибрилл гликопротеинов MAGP-1 и MGP-4. Как следствие наблюдается формирование неполноценных укороченных эластических волокон. Одновременно с этим усиливается экспрессия протеогликана вер-

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

сикана, который в значительном количестве откладывается на образовавшемся аномальном эластическом материале [50, 54]. Эта массивная аккумуляция эластоидных масс в верхнем и среднем слоях дермы, наряду с повышенной деградацией коллагена, является главным патогистологическим признаком фотостарения кожи [48].

Установлено, что в основе процессов, развивающихся в коже при старении, лежат фундаментальные изменения, ассоциированные с основной клеточной популяцией дермы – фибробластами: их количеством, морфологией, пролиферативным потенциалом, функциональной активностью [22, 41, 46, 49]. Нарушение физиологического баланса в этой клеточной популяции приводит к значительным изменениям как в микро-, так и в макро-структуре кожи. При этом если для хронологического старения характерным является изменение и пролиферативной, и биосинтетической активности фибробластов дермы, то для фотостарения преимущественно – биосинтетической [50].

## 5 ДЕГЕНЕРАЦИЯ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

### А. Изменения внутри фибробластического дифферона

По мере старения в структуре фибробластического дифферона кожи происходит уменьшение численности клеток. J. Varani et al. (2006), исследуя биоптаты кожи молодых (18–29 лет) и старых (80 лет и старше) людей, полученные из областей, защищенных от УФО, обнаружили, что общее количество фибробластов в коже старых людей снижено в среднем на 35% [10]. По мнению С. Zouboulis et al. (2008), причиной уменьшения численности популяции фибробластов дермы с возрастом является ослабление процесса мобилизации стволовых клеток или уменьшение числа стволовых клеток, способных отвечать на стимулирующие

к пролиферации сигналы [5], что неизбежно приводит к снижению количества дифференцированных клеток [10]. Возмещение утраченных клеток у пожилых людей происходит лишь частично [4]. Другая причина уменьшения популяции фибробластов дермы – снижение их пролиферативного потенциала, а также апоптоз [4, 50, 55, 56]. Данные изменения в клеточной популяции, по всей видимости, являются итогом реализации генетической программы, определяющей стабильность генома и динамику экспрессии различных генов на разных стадиях онтогенеза [4]. Так, с возрастом в фибробластах отмечается активация гена TP53, контролирующего репликативное старение клеток [57]. Кодированный этим геном специфический транскрипционный фактор – белок p53, – получая сигналы о повреждении генетического аппарата клетки, индуцирует как остановку клеточного цикла, так и апоптоз, что приводит к уменьшению популяции фибробластов в коже.

### Б. Изменение цитофизиологии фибробластов дермы

С возрастом наблюдается увеличение линейных размеров фибробластов, повышение содержания белков цитоскелета и их уплотнение, увеличивается удельное содержание микротрубочек и их организационных центров, промежуточных филаментов, образующих фибриллярные структуры в виде слоев и тяжей [4]. С. Schulze et al. (2010), исследуя вязкоэластические свойства фибробластов дермы, обнаружили возрастное увеличение их ригидности (на 60% при сравнении доноров 27 лет и 81 года), связанное с замещением мономерного G-актина на полимеризованный F-актин [58]. Выявленные изменения цитоскелета фибробластов могут способствовать нарушению их миграционных способностей (показано статистически значимое замедление миграции фибробластов из биоптатов кожи на поверхность культурального пластика у пожилых людей) и фокальных контактов с коллагеновым МКМ, что приводит к снижению пролиферативной и биосинтетической активности клеток [59, 60].

Показано, что наблюдаемые с возрастом изменения в дермальных фибробластах носят селективный характер. S. Mine et al. (2008), изучив характеристики папиллярных (ФП) и

ретикулярных (ФР) фибробластов дермы на тканевом и клеточном уровнях, показали, что с возрастом значительные морфологические и функциональные изменения в первую очередь претерпевают фибробласты папиллярного слоя дермы (ФП). Они становятся более гетероморфными по размеру и росту в культуре, снижается их клоногенный потенциал, меняется уровень секреции различных белков (в частности, увеличивается продукция матрикс-деградирующих металлопротеиназ, уменьшается продукция ингибиторов этих металлопротеиназ) [10].

Многочисленные исследования продемонстрировали, что фибробласты человека имеют ограниченную продолжительность жизни [50, 59, 61–65]. Так, при культивировании фибробласты пожилых доноров по сравнению с фибробластами молодых подвергаются более быстрому старению, и одним из основных показателей старения клеток является снижение скорости удвоения культуры [59]. Наблюдается также отставание и в числе клеточных делений: фибробласты молодых доноров характеризуются в 2 раза большим количеством митозов, чем фибробласты пожилых, благодаря чему одна клетка (и таких клеток – 60%) способна образовать колонию в 256 и более фибробластов. В случае же пожилых доноров лишь 2% клеток формируют колонии подобного объема [59, 65]. Это свидетельствует о том, что фибробласты после прохождения определенного количества делений (лимит Хейфлика) теряют способность к пролиферации и вступают в период клеточного старения [63]. При завершении репликативного жизненного пути наблюдается остановка роста клеток в G1-фазе, что сопровождается их неспособностью реагировать на физиологические митогены переходом в фазу синтеза ДНК (S1). Фенотип таких, не способных к делению, фибробластов получил название «фенотип старения» [66]. Наряду с необратимой остановкой роста такие клетки характеризуются нарушением дифференцировочных функций [67], резистентностью к апоптозу [66], изменением морфологии и биосинтетической активности [68].

В возрастзависимой редукции пролиферации фибробластов и соответственно старении клеток ведущую роль играют генетические факторы. В частности, селективная репрессия ряда рострегулирующих генов (экспрессия которых

важна для перехода клетки из G1-фазы в фазу S1): c-fos-proto-oncogene [69], Id-1, Id-2 компонентов транскрипционного фактора E2F [70]. В то же время экспрессия генов, кодирующих негативные регуляторы роста p21 и p16 (ингибиторы циклинзависимых протеинкиназ), значительно повышена [71].

Отмечено, что старению фибробластов способствует также наблюдающееся с возрастом снижение антиоксидантной активности, в частности выработка тиоредоксина – «вездесущего» многофункционального тиолового белка, участвующего в антиоксидантных механизмах защиты клеток. Установлено, что супрессия тиоредоксина индуцирует преждевременное старение фибробластов, выделенных из кожи молодых людей [72]. Таким образом, нарушение экспрессии генов приводит к развитию значительных изменений в дермальных фибробластах, и эти изменения настолько серьезны, что приводят к полной перестройке физиологии клеток, итогом чего является формирование популяции клеток с «фенотипом старения» [4].

По мнению многих исследователей, одним из основных механизмов, вызывающих репликативное старение фибробластов (не экспрессирующих, как и остальные соматические клетки, фермент теломеразу), является укорочение длины теломер – концевых отделов хромосом [64, 73–76]. Теломеры представляют собой повторяющиеся последовательности шести пар оснований TTAGGG, необходимых для поддержания целостности генома клетки [64, 73]. Длина теломер фибробластов кожи человека с каждым делением клетки уменьшается приблизительно на 150 оснований [75], что способствует ограничению числа клеточных делений, составляющих в среднем  $50 \pm 10$  [66]. Полагают, что укорочение длины теломер действует подобно митотическим часам, отсчитывающим количество клеточных делений [74].

Помимо уменьшения длины теломер необратимую остановку клеточного цикла могут инициировать и другие повреждения ДНК, вызываемые как внешними (УФО, генотоксическими веществами), так и внутренними (репликативными ошибками, спонтанными точечными мутациями и др.) причинами [68, 77]. Одним из основных факторов, запускающих данные процессы, является оксидативный стресс, который играет важ-

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

► ную роль в развитии обоих типов старения кожи [78]. Оксидативный стресс определяется аккумуляцией активных форм кислорода в перекисных соединениях и снижением антиоксидантной активности клеток [72, 78, 79]. Подтверждением наличия взаимосвязи между внутриклеточными активными формами кислорода и старением клеток служат эксперименты, в которых увеличение в культуре концентрации  $H_2O_2$  вызывает быструю остановку пролиферации клеток [80], а также индукцию преждевременного старения фибробластов, выделенных из кожи молодых людей [74]. Выявлено, что дермальные фибробласты пожилых людей по сравнению с фибробластами молодых проявляют большую чувствительность к оксидативному стрессу.

В отличие от фотостарения, при котором активные формы кислорода образуются в результате воздействия на кожу УФО, при хронологическом старении их основным источником являются митохондрии клеток, в которых эти соединения образуются в результате аэробных энергетических процессов [81]. Активные соединения кислорода, повреждая ядерную ДНК, вызывают индукцию сигнальных путей, что приводит к необратимой остановке клеточного цикла [80], старению клеток и(или) апоптозу. Данные соединения способны оказывать также и непосредственное влияние на органеллы клетки, в частности вызывать модификацию клеточных белков [81], что способствует снижению клеточных функций и окислению клеточной мембраны, приводящим к уменьшению эффективности трансмембранного транспорта и повреждению трансмембранных сигнальных путей [50].

Следовательно, ключевыми молекулярными механизмами старения популяции фибробластов дермы, а соответственно и старения кожи, могут служить прохождение клетками определенного количества делений и активация генов-онкосупрессоров, центральную роль в которой играют сигнальные пути ответа на повреждение ДНК, инициирующие остановку клеточного цикла, старение клеток и(или) апоптоз.

## 6 ДЕГРАДАЦИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ДЕРМЫ

Патофизиология процесса старения кожи, заключающаяся в нарушении регуляции множества механизмов поддержания структурной целостности соединительных тканей, может быть сведена к изменениям в популяции фибробластов дермы, снижению их пролиферативной и биосинтетической активности, что закономерно приводит к редукции количественного и качественного состава МКМ дермы [4]. Прежде всего, эти изменения затрагивают основной структурный белок дермы – коллаген [72].

По мнению ведущих исследователей, нарушение гомеостаза коллагенового матрикса является отличительной характеристикой кожи при обоих типах старения [7, 47]. В основе этих изменений лежит молекулярный механизм активации в фибробластах транскрипционного фактора AP-1 (транскрипционного комплекса, включающего белки c-fos- и c-jun- семейств), который является центральным индуктором нарушения гомеостаза коллагена в коже и представляет собой ключевое звено в патогенезе обоих типов старения (рис. 4) [44]. AP-1, регулируя экспрессию генов, кодирующих специфические ферменты – матриксдеградирующие металлопротеиназы MMP-1, MMP-3 и MMP-9, – индуцирует повышение и их экспрессии [4]. Как следствие происходит деградация (фрагментация) матриксного коллагена дермы [78].

Одновременно с этим активация AP-1 сопровождается снижением синтеза проколлагенов I и III типов (за счет блокировки эффектов трансформирующего фактора роста TGF- $\beta$ , способствующего биосинтезу коллагена) [44]: наблюдается редукция экспрессии TGF- $\beta$ /Smad-сигнального пути и его мишени – соединительнотканного фактора роста CTGF/CCN2, представляющего собой физиологический регулятор экспрессии коллагена. Триггерами активации AP-1 в клетках при обоих типах старения служат индукция MAPK (mitogen-activated protein kinases: ERK, extracellular signal-related kinase, JNK, c-Jun amino-terminal kinase и p38-kinase), а также продуцируемый фибробластами негативный регулятор синтеза коллагена матрицеллюлярный белок CCN1 [44, 68, 82]. При фотоповреждении данный

процесс усугубляется еще и вследствие непосредственной активации AP-1 ультрафиолетовыми лучами [44].

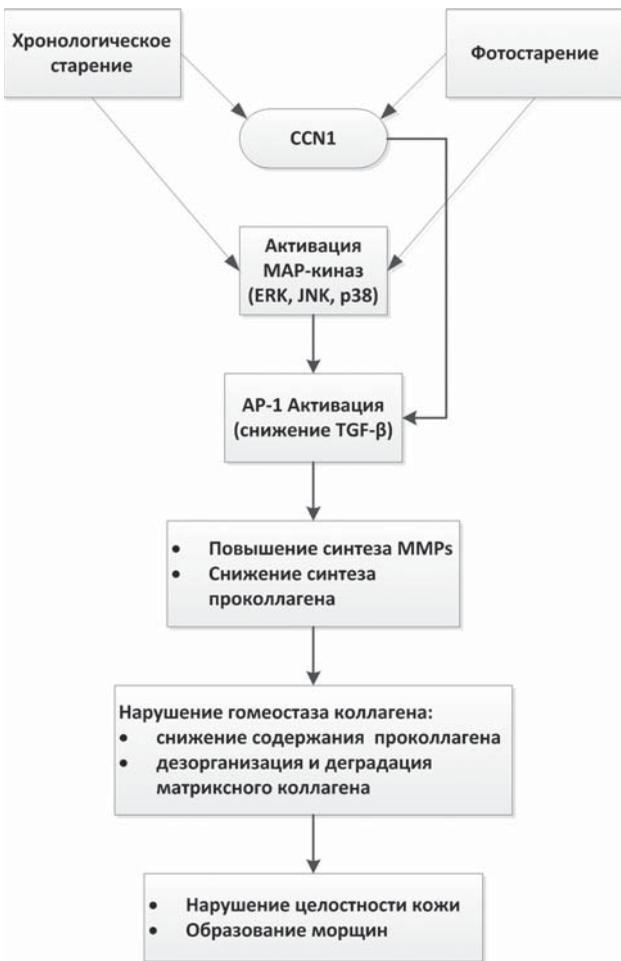


Рис. 4. Схема основных сигнальных путей, участвующих в процессе нарушения гомеостаза коллагена

В результате с возрастом наблюдается снижение продукции коллагена (в среднем к 80 годам в 3 раза, если сравнивать с 18–29 годами [47]), а также увеличение доли фрагментированного коллагена (в среднем также в 3 раза) [44]. Меняется и структура коллагена: он становится значительно более жестким и беспорядочно ориентированным [66]. Этот существенный для кожи процесс еще более усугубляется необратимой модификацией коллагенов за счет образования в них новых поперечных связей, роль которых выполняют так называемые AGEs-продукты (Advanced Glycosylation End-products – продукты неэнзиматических реакций гликозилирования между редуцированными

ми сахарами и аминокетонами долгоживущих белков-коллагенов), накапливающиеся с возрастом в МКМ [4, 67].

Состояние коллагенового матрикса, со своей стороны, оказывает значительное влияние на функции фибробластов [7]. Согласно F. Grinnell (2003), физические свойства коллагеновых волокон оказывают непосредственное влияние на функциональную активность фибробластов дермы [83]. В частности, фрагментация коллагенового матрикса приводит к нарушению целостности коллагеновой сети МКМ, что сопровождается нарушением фокальных контактов между фибробластами и коллагеновым матриксом, что, в свою очередь, лишает фибробласты возможности находиться в растянутом состоянии, которое является обязательным условием для их метаболической активности (роста и функционирования) (рис. 5).

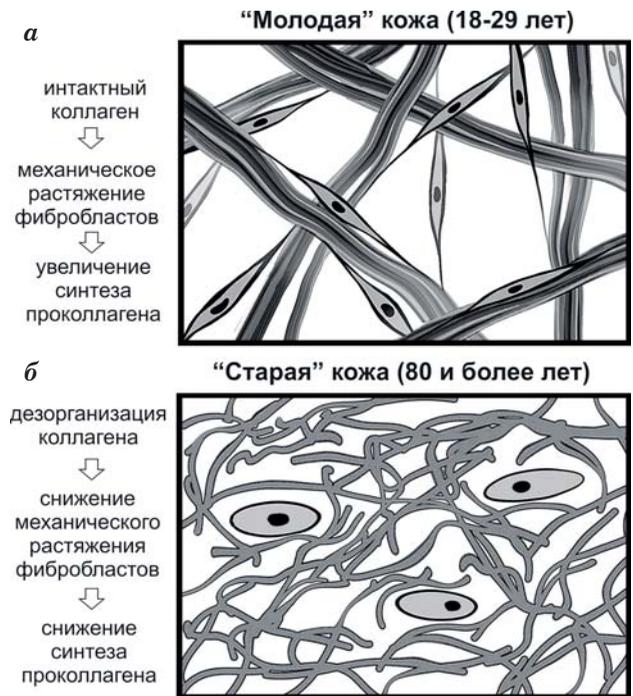


Рис. 5. Взаиморасположение фибробластов и коллагеновых волокон в дерме (Varani J. et al., 2006 с изм.) [47]: в «молодой» коже (18–29 лет) (а); в «старой» коже (80 и более лет) (б)

Известно, что интегрины (гетеродимерные трансмембранные белки), находящиеся на поверхности фибробластов, группируясь, образуют комплексы фокальной адгезии

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

▶ (фокальные контакты) между фибробластами и окружающим их коллагеновым матриксом [4, 44]. Формирование этих комплексов приводит к активации каскада внутриклеточных сигнальных путей, регулирующих метаболизм фибробластов, включая баланс между процессами синтеза коллагена и его деградацией матриксными металлопротеиназами [7]. Фокальные контакты ответственны за образование непосредственной связи между цитоскелетом клеток и коллагеновыми волокнами, обеспечивая между ними динамическое механическое натяжение. Благодаря последнему фибробласты имеют возможность находиться в растянутом состоянии, которое является обязательным условием для их метаболической и пролиферативной активности (см. рис. 5) [44]. Наблюдающаяся же в процессе старения (как хронологического, так и фотостарения) фрагментация коллагена приводит к нарушению целостности коллагенового матрикса, что сопровождается нарушением фокальных контактов между матриксом и фибробластами. Последнее лишает клетки возможности растягиваться, приводя к так называемому «коллапсу» [7], что неизбежно сопровождается нарушением их функций, в частности подавлением синтеза коллагена и увеличением продукции металлопротеиназ.

Таким образом, наблюдающиеся при обоих типах старения изменения дермы непосредственно связаны с ее основным клеточным компонентом – фибробластами – и синтезируемым ими межклеточным матриксом. Несмотря на то что фибробласты являются «архитекторами и строителями» матрикса, многостороннее влияние матрикса на них самих настолько значительно, что эти отношения правильнее рассматривать не как взаимодействие, а как взаимозависимость [4]. Понимание молекулярных механизмов и патофизиологии процессов, происходящих в коже при старении, дает возможность целенаправленно использовать существующие в эстетической медицине методы и соответственно эффективно и безопасно корректировать сопровождающие старение структурные дефекты кожи.

Представим некоторые косметологические методы, позволяющие ремоделировать микроструктуру дермы.

## 7 КОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ

### А. Аутогенные дермальные фибробласты

Прогениторные клетки пула дермальных фибробластов (см. рис. 2) имеют достаточно высокий пролиферативный потенциал: первичные культуры, полученные даже от очень пожилых людей (95 лет), содержат до 14% митотически активных фибробластов [12]. С увеличением возраста в популяции дермальных фибробластов, находящихся под контролем генетических и эпигенетических факторов, отмечается снижение пролиферативного потенциала [4, 50, 56, 61]. В условиях *in vitro* этот контроль, по всей видимости, нивелируется (или ослабевает) и наблюдается активация митотической активности клеток-предшественников фибробластов [12]. Данному процессу в немалой степени способствуют и ростовые факторы/цитокины, входящие в состав стандартной питательной среды, используемой при культивировании фибробластов [84, 85].

В результате в условиях культивирования *in vitro* из небольшого биоптата кожи (размером 3–5 мм) можно получить необходимое для проведения эффективной клеточной терапии количество функциональноактивных фибробластов. Культуры дермальных фибробластов обладают способностью активно синтезировать компоненты межклеточного матрикса, включая коллаген, эластин, гликозаминогликаны, факторы роста [17, 86–88].

После трансплантации в кожу биосинтетические потенциалы культивированных клеток сохраняются, и они активно и в течение длительного времени (не менее года) способны продуцировать компоненты межклеточного матрикса дермы [8, 87–89]. Клеточный материал вводится по специальной методике (интрадермально, тоннельным способом, с помощью специальных игл (30 G, 13 мм), двукратно), что позволяет равномерно с адекватной плотностью во всей области кожи, требующей коррек-

ции, пополнить пул резидентных фибробластов функционально активными клетками [89–91]. При этом отмечается стимуляция активности и самих резидентных фибробластов [88].

В результате наблюдается ремоделирование микроструктуры кожи: увеличивается содержание коллагеновых и эластических волокон, возрастают гидратация и объем дермы (толщина дермы увеличивается в среднем на 63%), усиливаются эпидермальный морфогенез и гемомикроциркуляция [89]. Клинический эффект носит постепенно нарастающий на протяжении 12–24 месяцев характер [90].

Впервые специалисты американской компании Isolagen (ныне Fibrocell) применили аутогенные фибробласты кожи для коррекции морщин и рубцов постакне в 1995 году, доказав тем самым безопасность и клиническую эффективность этой технологии [90, 91]. В июле 2011 года компания получила лицензию FDA на официальное применение аутофибробластов в эстетической медицине. В России сходная технология разрешена Росздравнадзором РФ к применению с июля 2010 года [92].

## **Б. Препараты на основе гиалуроновой кислоты (ГК)**

ГК является одним из главных компонентов основного вещества МКМ [93]. Благодаря своим физико-химическим свойствам, способности связывать и удерживать за счет водородных связей большое количество воды ГК может поддерживать увлажненность, тургор и эластичность кожи. С возрастом, как известно, содержание и распределение ГК значительно изменяются [4, 94]. Многочисленные исследования продемонстрировали, что интрадермальное введение препаратов на основе стабилизированной и нестабилизированной ГК помимо увеличения объема и увлажненности дермы приводит к увеличению в области введения количества новообразованного коллагена [7, 66]. Процесс инициации неоколлагеногенеза, как было показано, может наблюдаться в результате ряда потенциально возможных механизмов:

– рецепторопосредованной стимуляции фибробластов дермы через взаимодействие ГК с эндогенными клеточными рецепторами CD44 и RHAMM, с помощью которых осуществляется ГК-опосредованная активность клеток, включая биосинтез коллагена и, возможно, пролиферацию фибробластов [94];

– восстановления целостности коллагенового матрикса за счет восполнения его фрагментированных дефектов, что способствует образованию фокальных контактов между фибробластами и коллагеновым матриксом и соответственно нормальному растягиванию фибробластов. Последнее, как указывалось ранее, является обязательным условием для функциональной активности клеток, в частности пролиферации фибробластов и биосинтеза компонентов МКМ. Так, F. Wang (2007) в зонах введения стабилизированной ГК выявил механически растянутые синтетически-активные фибробласты [66]. K. Rock et al. (2010) в зонах введения нестабилизированной ГК обнаружили пролиферацию фибробластов [94];

– активации трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ) – важного индуктора синтеза коллагена [95].

## **В. Лазерные методы омоложения кожи**

В этой части рассмотрим применение аблятивного (повреждение поверхностных слоев кожи, включая эпидермис) и неаблятивного (селективное повреждение дермы без вовлечения эпидермиса) методов воздействия лазера на кожу [7, 96, 97]. Процесс восстановления кожи после воздействия лазером (при обоих типах повреждения) протекает по механизму заживления ран: с ремоделированием коллагена и других компонентов МКМ дермы. Показано, что повреждение кожи лазером вызывает индукцию высокоорганизованного каскада молекулярных механизмов [98]: после повреждения кожи в первой фазе наблюдается повышение количества провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ , что вызывает индукцию транскрипционного фактора AP-1 и соответственно сопровождается повышением количества деградирующих МКМ металлопротеиназ MMP-1, MMP-3, MMP-9. Как следствие происходит деградация фрагментированного коллагена. Следующая фаза – репаративная: пролиферация фибробластов, повышение количества трансформирующего фактора роста TGF- $\beta$  и соответственно – восстановление МКМ дермы, включая неоколлагеногенез I и III типов. Ремоделирование кожи и аккумуляция нового коллагена приводят к значительному улучшению состояния кожи [7, 96–98].

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

Применение описанных методов и средств как в виде моно-, так и при комбинированной терапии могут позволить врачу-косметологу в течение длительного времени поддерживать кожу пациента в хорошем состоянии.

### Литература

1. Sorrel JM, Caplan AI. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *J Cell Sci*, 2004;117:667–675.
2. Fu X, Sun X. Can hematopoietic stem cells be an alternative source for skin regeneration? *Ageing Res Rev*, 2009;8(3):244–249.
3. Омельяненко НП, Слуцкий ЛИ. В кн.: Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). – М.: Известия, 2009.
4. Stephens P, Genever P. Non-epithelial oral mucosal progenitor cell populations. *Oral Diseases*, 2007;13:1–10.
5. Zouboulis C, Adjaye J, Akamatsu H, et al. Human skin stem cells and the ageing process. *Exper gerontol*, 2008;43:986–997.
6. Жукова О, Потехаев Н, Стенько А, Бурдина А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клин дерматол и венерол*, 2009;3:4–9.
7. Fisher G, Varani J, Voorhees J. Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications. *Arch Dermatol*, 2008;144(5):666–672.
8. Zhao Y, Wang J, Yan X, et al. Preliminary survival studies on autologous cultured skin fibroblasts transplantation by injection. *Cell transplantation*, 2008;17:775–783.
9. Серов ВВ, Шехтер АБ. Соединительная ткань. Функциональная морфология и общая патология. – М.: Медицина, 1981.
10. Mine S, Fortunel N, Pigeon H, et al. Aging alters functionally human dermal papillary fibroblasts but not reticular fibroblasts: a new view of skin morphogenesis and aging. *PLoS*, 2008;3(12):1–13.
11. Смирнова И. Функциональная морфология старения. *Успехи Геронтол*, 2004;13:44–51
12. Байрейтер К, Франц П, Родеман Х. Фибробласты при нормальной и патологической терминальной дифференцировке, старении, апоптозе и трансформации. *Онтогенез*, 1995;236(1):22–37.
13. Kahari VM, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in skin. *Exp Dermatol*, 1997;6:199–213.
14. Шехтер АБ, Берченко ГН. Фибробласты и развитие соединительной ткани: ультраструктурные аспекты биосинтеза, фибрилlogenеза и катаболизма коллагена. *Архив патологии*, 1978;8:70.
15. Parsonage G et al. A stromal address code defined by fibroblasts. *Trends Immunol*, 2005;26:150–156.
16. Tomasek J, Gabbiani G, Hinz B, et al. Myofibroblasts and mechanoregulation of connective tissue remodelling. *Mol Cell Biol*, 2002;3:349–363.
17. Sorrell J, Baber M, Caplan A. Site-matched papillary and reticular human dermal fibroblasts differ in their release of specific growth factors/cytokines and in their interaction with keratinocytes. *J Cell Physiol*, 2004;200:134–145.
18. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nature Publishing Group*, 2006;6:392–401.
19. Chang H, Chi J-T, Dudoit S, et al. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *PNAS*, 2002;99(20):12877–12882.
20. Lee D, Cho K. The effects of epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts on the formation of cutaneous basement membrane in threedimensional culture systems. *Arch Dermatol Res*, 2005;296:296–302.
21. Marionnet C, Pierrard C, Vioux-Chagnoleau C, et al. Interactions between fibroblasts and keratinocytes in morphogenesis of dermal epidermal junction in a model of reconstructed skin. *J Invest Dermatol*, 2006;126:971–979.
22. Sorrel J, Baber M, Caplan A. Clonal characterization of fibroblasts in the superficial layer of the adult human dermis. *Cell Tissue Res*, 2003;327:499–510.
23. Sorrell M, Caplan AI. Fibroblasts – a diverse population at the center of it all. *Int Rev Cell Molec Biol*, 2009;276:161–214.
24. Haniffa M, Collin M, Buckley C, et al. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts new clothes? *Haematologica*, 2009;94(2):258–263.
25. Korn JH. Modulation of lymphocyte mitogen responses by cocultured fibroblast. *Cell Immunol*, 1981;63(2):374–384.
26. Hogaboam CM, Steinhilber ML, Chensue SW, Kunkel SL. Novel roles for chemokines and fibroblasts in interstitial fibrosis. *Kidney Int*, 1998;54(6):2152–2159.
27. Davies M, Martin J, Thomas GJ, et al. Proteinases and glomerular matrix turnover. *Kidney Int*, 1992;41:671–677.
28. Бозо ИЯ, Деев РВ, Пинаев ГП. Фибробласт – специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? *Цитология*, 2010;52(2):99–109.
29. Covas D, Panepuccia R, Fontes A, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146+ perivascular. *Exp Hematol*, 2008;36(5):642–654.

30. Strutz F, Okada H, Lo C, et al. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. *J Cell Biol*, 1995;130:393–405.
31. Nolte SV, Xu W, Rennekampff H-O, Rodemann P. Diversity of Fibroblasts. A Review on Implications for Skin Tissue Engineering Cells Tissues Organs, 2008;187:165–176.
32. Jahoda C, Reynolds A. Dermal-epidermal interactions. Adult follicle-derived cell populations and hair growth. *Dermatol Clin*, 1996;14:573–583.
33. Young H, Steele T, Bray R, et al. Human reserve pluripotent mesenchymal stem cells are present in the connective tissues of skeletal muscle and dermis derived from fetal, adult, and geriatric donors. *Anat Rec*, 2001;264:51–62.
34. Toma J, McKenzie I, Bagli D, et al. Isolation and characterization of multipotent skin-derived precursors from human skin. *Stem Cells*, 2005;23:727–737.
35. Bartsch G, Yoo JF, De Coppi P, et al. Propagation, expansion, and multilineage differentiation of human somatic stem cells from dermal progenitors. *Stem Cells Dev*, 2005;14:337–348.
36. Lavoie J-F, Biernaskie J, Chen Y, et al. Skin-Derived Precursors Differentiate Into Skeletogenic Cell Types and Contribute to Bone Repair. *Stem cells Dev*, 2009;18(6):893–905.
37. Chen F, Zhang W, Bi D, et al. Clonal analysis of nestin(-) vimentin(+) multipotent fibroblasts isolated from human dermis. *J Cell Sci*, 2007;120:2875–2883.
38. Gago N, Perez-Lopes V, Sanz-Jaka J, et al. Age-dependent depletion of human Skin-Derived progenitor Cells. *Stem Cells*, 2009;27:1164–1172.
39. Fernandes K, Toma J, Miller F. Multipotent skin-derived precursors: adult neural crest-related precursors with therapeutic potential. *Phil Trans R Soc B*, 2008;363:185–198.
40. Capri M, Salvioli S, Sevini F, et al. The genetics of human longevity. *Ann New York Acad Sci*, 2006;1067:252–263.
41. Fisher G, Voorhees J. Molecular mechanisms of retinoid actions in skin. *FASEB J*, 1996;10:1002–1013.
42. Хертель Б. Молекулярные и клеточные механизмы естественного старения и фотостарения (стрессорные факторы, защитный механизм). *Косметика и медицина*, 2000;(4):5–17.
43. Zhong J, Hua N, Xiong X, et al. A novel promising therapy for skin aging: Dermal multipotent stem cells against photoaged skin by activation of TGF- $\beta$ /Smad and p38 MAPK signaling pathway – [www.elsevier.com/locate/mehy](http://www.elsevier.com/locate/mehy) (article in press).
44. Fisher G, Kang S, Varani J, et al. Mechanism of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*, 2002;138:1462–1467.
45. Miyamura Y, Coelho S, Wolber R, et al. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. *Pigment Cell Res*, 2007;20:1–13.
46. Varani J, Schuger L, Dame M, et al. Reduced fibroblast interaction with intact collagen as a mechanism for depressed collagen synthesis in photodamaged skin. *J Invest Dermatol*, 2004;122:1471–1479.
47. Varani J, Dame M, Rittie L, et al. Decreased Collagen Production in Chronologically Aged Skin. Roles of Age-Dependent Alteration in Fibroblast Function and Defective Mechanical Stimulation. *AJP*, 2006;168(6):1861–1868.
48. Varani J, Warner R, Gharaee-Kermani M, et al. Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *J Invest Dermatol*, 2000;114:480–486.
49. Fisher G. The pathophysiology of photoaging of the skin. *Cutis*, 2005;75(2 Suppl):5–8.
50. Jenkins G. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2002; 123:801–810.
51. Sorrell M, Caplan AI. Fibroblasts – a diverse population at the center of it all. *Int Rev Cell Molec Biol*, 2009;276:161–214.
52. Quan T, Qin Z, Shao Y, et al. Retinoids suppress cysteine-rich protein 61 (CCN1), a negative regulator of collagen homeostasis, in skin equivalent cultures and aged human skin in vivo. *Experiment Dermatol*, 2011;20(7):572–576.
53. Varani J, Fisher GJ, Kang S, Voorhees J. Molecular mechanisms of intrinsic skin ageing and retinoid induced repair and reversal. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 1998;3(1):57–60.
54. Makarantonaki E, Zouboulis C. Molecular Mechanisms of Skin Aging State of the Art Ann. N.Y. Acad Sci, 2007,1119:40–50.
55. Cristofalo VJ, Pignolo RJ. Replicative senescence of human fibroblast-like cells in culture. *Physiol Rev*, 1993;73:617–638.
56. Wang E. Senescent human fibroblasts resist programmed cell death and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res*, 1995;55:2284–2292.
57. Смирнова ИЮ, Кветной ИМ, Князькин ИВ и др. Нейроиммуноэндокринология кожи и молекулярные маркеры ее старения. – СПб.: Деан, 2005.
58. Schulz C, Wetze F, Kueper T, et al. Stiffening of Human Skin Fibroblasts with Age. *Biophysical Journal*, 2010;99:2434–2442.
59. Schneider EL, Mitsui Y. The relationship between in vitro cellular aging and in vivo human age. *PNAS (USA)*, 1976;73(10):3584–3588.
60. Soukupova M, Holeckova E. The latent period of explanted organs of newborn, adult and senile rats. *Exp Cell Res*, 1964;33:361–367.
61. Cristofalo V, Allen R, Pignolo R, et al. Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in

## Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи

- culture: A reevaluation (cell proliferation/cell senescence/aging). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995;95:10614–10619.
62. Daniel CW. Aging of cells during serial propagation in vivo. *Adv Gerontol Res*, 1972;(4):167–199.
  63. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*, 1965;37:614–636.
  64. Buckingham E, Klingelhutz A. The role of telomeres in the ageing of human skin. *Exp Dermatol*, 2011;20:297–302.
  65. Smith JR, Pereira-Smith OM, Schneider EL. Colony size distributions as a measure of in vivo and in vitro aging. *PNAS (USA)*, 1978;75(3):1353–1356.
  66. Wang E, Luis A, Garsa M. In vivo stimulation of de novo collagen production by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol*, 2007;143:155–163.
  67. Campisi J. Replicative senescence: an old wives tale. *Cell*, 1996;84:497–500.
  68. Jun J, Lau L. The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nature cell biology*, 2010;12(7):676–685.
  69. Sadrri T, Campisi J. Repression of c-fos transcription and an altered genetic program in senescent human fibroblasts. *Science*, 1990;247:205–209.
  70. Hara E, Yamaguchi T, Nojima H, et al. Id related genes encoding helix loop helix proteins are required for G1 progression and are repressed in senescent human fibroblasts. *J Biol Chem*, 1994;269:2139–2145.
  71. Hara E, Uzman JA, Dimri GP, et al. The helix-loop-helix protein Id-1 and retinoblastoma protein binding mutant of SV40 T antigen synergize to reactivate DNA synthesis in senescent human fibroblasts. *Dev Genet*, 1996;18:161–172.
  72. Zouboulis C, Makrantonaki E. Clinical aspect and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in dermatology*, 2011;29:3–14.
  73. lackburn E. Switching and signaling at the telomere. *Cell*, 2001;106(6):661–673.
  74. Makpol S, Abidin A, Sairin K, et al. Tocotrienol prevents oxidative stress-induced telomere shortening in human fibroblasts derived from different aged individuals. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2010;3(1):35–43.
  75. Kosmadaki M, Gilchrist B. The role of telomeres in skin aging/photoaging. *Micron*, 2004;35(3):155–159.
  76. Sugimoto M, Yamashita R, Ueda M. Telomere length of the skin in association with chronological aging and photoaging. *J Dermatol Sci*, 2006;43:43–47.
  77. Vaziri H, Benchimol S. From telomere loss to p53 induction and activation of a DNA-damage pathway at senescence: the telomere loss / DNA damage model of cell aging. *Exp Gerontol*, 1996;31(1/2):295–301.
  78. Kohl E, Steinbauer J, Landthaler M, Szeimies R-M. Skin ageing. *J Eur Acad Dermatol Venereol (JEADV)*, 2011;25(8):873–884.
  79. Han K-H, Choi HR, Won C-H, et al. Alteration of the TGF- $\beta$ /SMAD pathway in intrinsically and UV-induced skin aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2005;126:560–567.
  80. Chen Q, Bartolomev J, Campisi J, et al. Molecular analysis of H2O2-induced senescent-like growth arrest in normal human fibroblasts: p53 and Rb control G1 arrest but not cell replication. *Biochem J*, 1998;332:43–50.
  81. Balaban R, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants and aging. *Cell*, 2005;120(4):483–495.
  82. Quan T, Qin Z, Shao Y, et al. Retinoids suppress cysteine-rich protein 61 (CCN1), a negative regulator of collagen homeostasis, in skin equivalent cultures and aged human skin in vivo. *Experimental Dermatology* (принята в печать 1 января 2011), p. 1–5.
  83. Grinnell F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends Cell Biol*, 2003;13(5):264–269.
  84. Mazlyzam AL, Aminuddin BS, Saim L, Ruszymah BH. Human serum is an advantageous supplement for human dermal fibroblast expansion: clinical implications for tissue engineering of skin. *Arch Med Res*, 2008;39(8):743–752.
  85. Kuznetsov S, Mankani M, Bianco P, Robey P. Enumeration of the colony-forming units—fibroblast from mouse and human bone marrow in normal and pathological conditions. *Stem Cell Res*, 2009;2:83–94.
  86. Келлер Г, Себастиан Дж, Лакомбе Ю и др. Сохранность инъецируемых аутологичных человеческих фибробластов. *Бюл эксп биол мед*, 2000;130(8):203–206.
  87. Макеев ОГ, Улыбин АИ, Зубанов ПС, Малишевская ЕГ. Использование аутологичных дермальных фибробластов для коррекции дефектов кожи. *Вестн эстетич мед*, 2008;7(2):72–78.
  88. Сысоева ВЮ, Рубина КА, Калинина НИ и др. Аутологичные фибробласты дермы: перспективы применения в медицине. В кн.: Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения. Руководство для врачей. Под ред. Качука ВА. – М.: Литтерра, 2009. С. 222–233.
  89. Зорин В, Зорина А, Черкасов В и др. Качественная и количественная оценка состояния кожи лица после применения аутологичных дермальных фибробластов. *Вестн Эстетич Мед*, 2011;10(2):16–26.
  90. Watson D, Keller GS, Lacombe V, Fodor PB, Rawnsley, lask GP. Autologous fibroblasts for treatment of facial rhytids and dermal depressions. A pilot study. *Arch Facial Plast Surg*, 1999;1(3):165–70.

91. Boss WK Jr, Usal H, Chernoff G, et al. Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery. *Clin Plast Surg*, 2000;27(4):613-626
92. Weiss RA, Weiss MA, Beasley KL, Munavalli G. Autologous cultured fibroblast injection for facial contour deformities: a prospective, placebo-controlled, Phase III clinical trial. *Dermatol Surg*, 2007;33(3):263-268.
93. Исаев АА, Приходько АВ, Зорин ВЛ и др. Медицинская технология: «Забор, транспортировка, выделение, культивирование, криоконсервирование, хранение и использование аутологичных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых изменений кожи». ФС№2009/308 от 21 июля 2010 г.
94. Калужная Л, Шармазан С, Моисеева Е и др. Место гиалуроновой кислоты в проблеме старения кожи. *Эстетична медицина*, 2009,10(4):44-46.
95. Rock K, Fishcer K, Fishcer J. Hyaluronan used for intradermal injections is incorporated into the pericellular matrix and promotes proliferation in human skin fibroblasts in vitro. *Dermatol*, 2010;221:219-228.
96. Thiele J, Hsieh S, Ekanayake-Mudiyanselage S. Vitamin E: critical review of its current use in cosmetic and clinical dermatology. *Dermatol Surg*, 2005;31:805-813.
97. Orringer J, Kang S, Johoson T. Connective tissue remodeling induced by carbon dioxide laser resurfacing of photodamaged human skin. *Arch. Dermatol*, 2004;140:1326-1332.
98. Manstein D, Herron G, Sink R. Fractional photothermolysis: a new concept for cutaneous remodeling using microscopic patterns of thermal injury. *Lasers in surgery and medicine*, 2004;34:426-438.

реклама

Staraya Krepost **Старая крепость**

поиск

ГЛАВНАЯ О КОМПАНИИ КОНТАКТЫ ПОМОЩЬ

ИЗДАНИЯ

МЕРОПРИЯТИЯ

СAM SYMPOSIUM XI МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

COSMOPRESS.RU

Войти Регистрация

АНОНСЫ МЕРОПРИЯТИЙ

**ИНТЕРНЕТ-МАГАЗИН периодических изданий, книг, мастер-классов на CD и DVD**

ЭкспоМедиаГруппа «Старая крепость» представляет

# COSMOPRESS.RU

Интернет-портал для специалистов индустрии красоты

- Косметология
- Эстетическая медицина
- Ногтевой сервис
- Искусство бизнеса
- СПА
- Массаж

- ✓ быстрая доступа к информации
- ✓ удобный поиск необходимых услуг
- ✓ расширение профессиональных возможностей

Профессиональные журналы

Тематические выставки

Профессиональное обучение

Учебная литература

Новости и анонсы

Профессиональная жизнь

**www.cosmopress.ru**  
**info@cosmopress.ru**