

Разобрать до молекулы

Современный подход к коррекции возрастных изменений кожи: комплексное воздействие на молекулярно-клеточном уровне.



Алла Зорина

кандидат медицинских наук, врач-биохимик, главный врач отдела регенеративной медицины Института стволовых клеток человека, Москва



Светлана Шоколова

врач-дерматолог, косметолог клиники «Релайф», Москва

Механизмы старения

В современной эстетической медицине для коррекции возрастных изменений кожи применяется множество самых разных методов: аппаратных (например, световые, радиоволновые), инъекционных (биоревитализация, контурная пластика, SPRS-, PRP-, ботулинотерапия) и др. Соответственно, при составлении косметологической anti-age-программы для конкретного пациента перед врачом неизменно встает вопрос выбора методов, связанный, с одной стороны, с особенностями влияния каждого из этих методов на процесс старения кожи, а с другой — с возможностью их сочетания, оптимального с точки зрения синергии (потенцирования) действия, клинического эффекта и безопасности применения. Адекватное решение этого вопроса требует от врача глубокого понимания механизмов старения кожи, патофизиологии этого процесса на всех уровнях, начиная с базового — молекулярного и клеточного.

Прежде чем представить один из вариантов такой патофизиологически обоснованной программы, рассмотрим базовые механизмы старения кожи подробнее.

Молекулярные и клеточные изменения в процессе старения кожи

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^[1]. При фотостарении, которое может наблюдаться еще до появления признаков хронологического старения, кожа утолщается, грубеет, становится более сухой, в ней формируются глубокие морщины, телеангиатомии, иррегулярная пигментация и солнечные лентиго^[2].

В отличие от хронологического старения, представляющего собой генетически детерминированный процесс, зависящий от прожитых лет, фотостарение напрямую

зависит от степени воздействия ультрафиолетовых лучей и генетически predetermined степени пигментации кожи^[3; 4]. При этом деструктивные изменения, происходящие в коже при фотостарении, накладываются на процессы хронологического старения и тем самым ускоряют развитие последнего^[5].

Известно, 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^[1; 6–9]. При этом если для хронологического старения характерно снижение и пролиферативной, и биосинтетической активности фибробластов дермы, то для фотостарения — преимущественно биосинтетической.

Фибробласты дермы — гетерогенная клеточная популяция, включающая весь фибробластический дифферон (от мультипотентных мезенхимных стволовых клеток, прогениторных клеток, зрелых и постмитотических фибробластов до конечно дифференцированных фиброцитов); именно эта популяция клеток является основным «действующим лицом» в физиологии кожи^[6; 9; 10]. Фибробласты контролируют состав и структуру межклеточного матрикса (МКМ) дермы: они отвечают и за синтез, и за разрушение коллагена, эластина и основного вещества МКМ, обеспечивая по принципу обратной связи физиологический баланс между этими двумя полярными процессами^[11; 12]. Соответственно, нарушение данного баланса приводит к значительным изменениям как в микро-, так и макроструктуре кожи.

Таким образом, патофизиологический процесс старения кожи заключается в нарушении регуляции механизмов, которые поддерживают ее структурную целостность, что обусловлено снижением пролиферативной и биосинтетической активности фибробластов. Последнее закономерно приводит к редукции количественного и качественного состава МКМ дермы^[13]. Прежде всего эти процессы затрагивают основной структурный белок дермы — коллаген^[14].

Изменения коллагена в процессе старения кожи

Изменения гомеостаза коллагена является отличительной характеристикой кожи как при хроно-, так и при фотостарении^[7; 15].

В основе этих изменений лежит молекулярный механизм — активация в фибробластах транскрипционного фактора AP-1, который является «главным виновником» — центральным индуктором — разрушения коллагена и ключевым звеном в патогенезе обоих типов старения^{[Рис. 1] [3]}. (Транскрипционные факторы — белки, контролирующие транскрипцию, то есть перенос генетической информации с ДНК на РНК.) AP-1 повышает экспрессию (активность) генов, кодирующих синтез специфических ферментов — металлопротеиназ MMP-1, MMP-3 и MMP-9, которые играют основную роль в деградации МКМ^[13; 16]. Как следствие, происходит разрушение (фрагментация) коллагена дермы^[17]. Одновременно с этим активация AP-1 сопровождается снижением продукции коллагена^[3]. Так, в фибробластах кожи пожилых людей, по сравнению с молодыми, выявлено значительное снижение экспрессии генов проколлагена и, напротив, повышение экспрессии генов MMP-s^[18]. При фотостарении эти процессы усиливаются еще и вследствие непосредственной активации AP-1 ультрафиолетовыми лучами^[3].

В результате с возрастом наблюдается снижение продукции коллагена (в частности, к 80 годам количество коллагена в коже в 3 раза меньше, чем в 18–29 лет)^[2] и повышение содержания фрагментированного коллагена (в среднем также в 3 раза)^[3]. Меняется и качество, и структура коллагена: он становится значительно более жестким и более беспорядочно ориентированным^[19]. Кроме того, в процессе старения происходит необратимая модификация этого белка за счет образования в нем новых поперечных связей, что приводит к замедлению скорости его обмена. Роль таких «сшивков» выполняют AGEs-продукты, накапливающиеся с возрастом в МКМ^[13; 20]. (AGEs-продукты — Advanced Glycosylation End-products — конечные продукты избыточного гликозилирования, т. е. неферментативного присоединения углеводной молекулы (обычно глюкозы) к аминогруппам коллагена.)

Взаимозависимость изменений коллагенового каркаса и состояния фибробластов

Состояние коллагенового каркаса (матрикса), в свою очередь, оказывает значительное влияние на функционирование фибробластов^[15]. Известно, что интегрины (трансмембранные белки), находящиеся на поверхности фибробластов, группируясь, образуют комплексы фокальной адгезии — фокальные контакты — между фибробластами и окружающим их МКМ^[3; 13]. Фокальные контакты ответственны за образование непосредственной связи между цитоскелетом и коллагеновым матриксом, обеспечивая между ними динамическое механическое натяжение. Благодаря последнему фибробласты находятся в растянутом состоянии, которое является обязательным условием для их метаболической и пролиферативной активности^{[Рис. 2] [5; 7]}. Однако преобладание деградации коллагена над его синтезом в процессе старения и накопление фрагментированных участков приводит к повреждению коллагенового каркаса и нарушению фокальных контактов между МКМ и фибробластами. Все эти изменения лишают фибробласты возможности растягиваться, вызывая так называемый «коллапс», что сопровождается нарушением их функций, в частности пода-

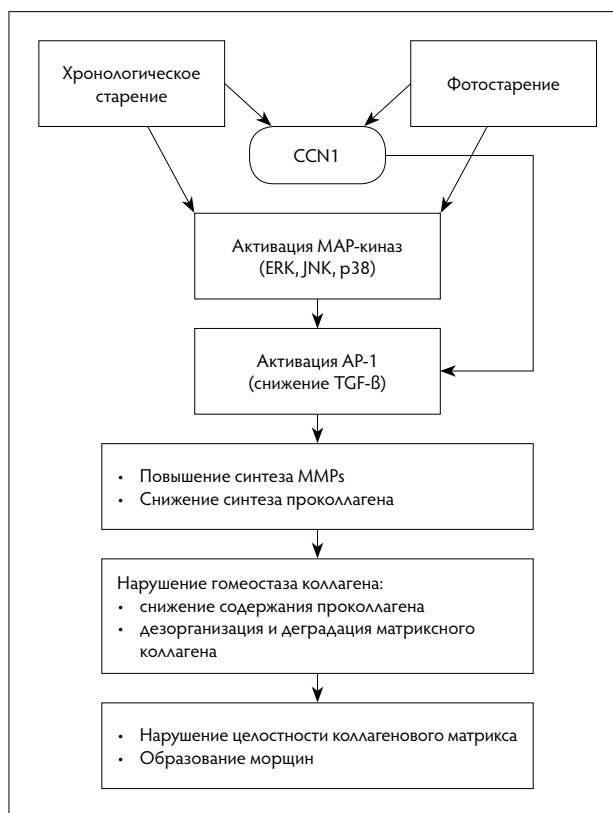


Рис. 1. Схема основных сигнальных путей, участвующих в нарушении гомеостаза коллагена

влением синтеза коллагена и увеличением продукции металлопротеиназ^[5; 7].

Итак, очевидно, что наблюдающиеся при старении изменения кожи непосредственно связаны с ее основным клеточным компонентом — фибробластами и синтезируемым ими межклеточным матриксом. Причем взаимоотношения между ними настолько многогранны, что их следует рассматривать не как взаимодействие, а как взаимозависимость (Н. П. Омеляненко, 2009)^[13].

В связи со всем вышеизложенным представляется совершенно логичным применение для коррекции возрастных изменений кожи (ее обновления, омоложения) комплекса методов, воздействующих на клеточном и молекулярном уровнях. Его задачи:

- улучшение состояния МКМ дермы и восстановление целостности коллагенового каркаса, что позволит ремоделировать микроструктуру кожи и создать благоприятные условия для функционирования фибробластов;
- восполнение уменьшившейся с возрастом популяции дермальных фибробластов (это особенно актуально для пациентов с низкими значениями параметров регенераторного потенциала кожи пациента^[10]).

Далее приведем один из вариантов такого комплексного подхода к терапии возрастных нарушений кожи.

Клинический опыт подтверждает целесообразность и эффективность проведения комплексной anti-age-терапии, воздействующей на патофизиологические процессы старения кожи на молекулярном и клеточном уровнях.

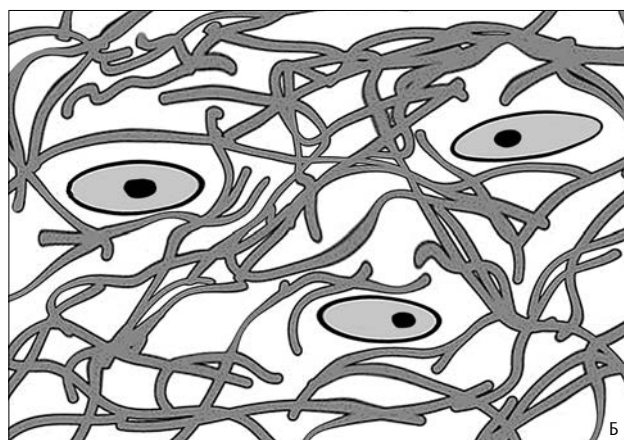
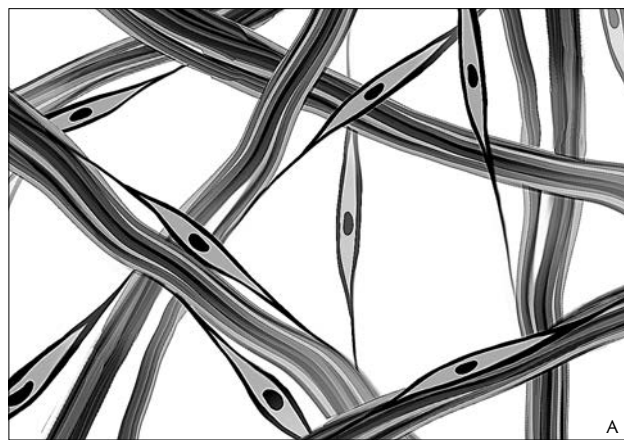


Рис. 2.
Взаиморасположение
фибробластов
и коллагеновых
волокон: а — в коже
молодых людей
(18–29 лет); б — в коже
людей старшего
возраста (старше
80 лет) (Varani J., et al.
2006 с изм.^[7])

Комбинированная программа косметологической коррекции возрастных изменений кожи

Предлагаемая нами программа представляет собой комбинацию лазерных технологий, SPRS-терапии и PRP-терапии, применяемых поэтапно.

Первый этап

Лазерное воздействие на кожу, в частности с помощью неаблативного фракционного лазерного фототермолиза (мы используем аппарат Fraxelre: store DUAL (США)).

Понимание молекулярных механизмов и патофизиологии процессов, происходящих в коже при старении, учет индивидуальных особенностей кожи пациентов и ее регенераторного потенциала, применение исходя из этого комплекса соответствующих современных методик позволяют разработать для пациентов оптимальную с точки зрения безопасности и клинической эффективности программу коррекции возрастных изменений кожи.

Этот метод предполагает микроскопическое термальное фракционное повреждение дермы^[15; 21; 22]. Показано, что процесс восстановления кожи после воздействия лазером протекает по механизму заживления ран — с ремоделированием коллагена и других компонентов МКМ. Повреждение дермы лазером включает целый каскад высокоорганизованных молекулярно-клеточных механизмов^[23]. В первой фазе заживления наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , что вызывает индукцию транскрипционного фактора AP-1 и, соответственно, сопровождается повышением уровня металлопротеиназ MMP-1, — 3, — 9, что приводит к деградации старого (фрагментированного) коллагена, разрушению МКМ. Следующая фаза — репаративная: миграция дермальных фибробластов в зону повреждения, их пролиферация, повышение уровня трансформирующего фактора роста TGF- β (контролирует пролиферацию, дифференцировку и другие клеточные функции) и, как следствие, активация неокολагеногенеза, восстановление МКМ дермы.

Таким образом, применение лазерных технологий позволяет добиться ремоделирования дермы^[15; 21–23].

Второй этап

Начинаем спустя 3–6 месяцев после проведения лазерной процедуры (после того как полностью завершатся восстановительные процессы в коже). Проводим SPRS-терапию (Service for Personal Regeneration of Skin — персонифицированный комплекс процедур для восстановления кожи), основанную на технологии «Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи» (РУ ФС № 2009/308 от 21.07.2010). Суть этого лечения заключается в привнесении в дерму аутологичных дермальных фибробластов (аутоДФ), полученных из биоптата кожи пациента^[24]. После трансплантации аутоДФ интегрируются с резидентными фибробластами и, пополнив их пул, полноценно функционируют согласно «законам» дермы. При этом, как показали проведенные нами клинические исследования, аутоДФ активно продуцируют компоненты МКМ, причем выработка коллагена регистрируется в течение не менее года^[25–28]. Одновременно с этим отмечается также стимуляция активности и резидентных фибробластов^[29]. В результате в коже увеличивается содержание коллагеновых и эластиновых волокон, гидратация и объем дермы (толщина дермы увеличивается в среднем на 63%), усиливаются эпидермальный морфогенез и гемомикроциркуляция.

Третий этап

Применение PRP-терапии (для ее проведения мы используем технологию RegenLab, Швейцария, РУ № ФСЗ 2011/11417 от 30.12.2011).

Этот этап начинаем не ранее чем через 8–12 месяцев после проведения SPRS-терапии (как указывалось выше, в течение этого времени трансплантированные аутоДФ еще активно функционируют) с целью поддержания достигнутого клинического эффекта, а также в случае инсоляции.

Старение кожи — это сложный биологический процесс с множеством «участников», включая генетические, эпигенетические факторы, а также влияние окружающей среды, прежде всего инсоляции. Поэтому целесообразно провести процедуру, способствующую активации фибробластов (в норме фибробласты обладают незначительной функциональной активностью^[31]). Оптимальным для этих целей методом, по нашему мнению, является PRP-терапия.

PRP — обогащенная аутологичными тромбоцитами плазма крови. В норме она колеблется в пределах 150–350 тыс. кл./мкл, то есть в среднем составляет 200 тыс. кл./мкл. Терапевтически эффективной для препарата PRP считается концентрация тромбоцитов, равная 1 млн (и более) кл./мкл, то есть примерно в 4–7 раз превышающая средний уровень тромбоцитов в крови^[30; 31]. (Однако количество тромбоцитов и способ их подсчета пока не оптимизированы.)

Тромбоциты служат богатым источником факторов роста (ФР), цито-хемокинов, а также плазматических белков крови (фибрина, фибронектина, витронектина и др.), которые депонируются в органеллах этих клеток: α-гранулах, электронно-плотных тельцах и лизосомах^[30; 31]. В настоящее время описано более 30 ФР, содержащихся в основном в α-гранулах тромбоцитов, среди которых особый интерес, в частности для эстетической медицины, представляют фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), эпидермальный фактор роста (EGF), основной фактор роста фибробластов (β-FGF, трансформирующий фактор роста β1 (TGF-β1), инсулиноподобный фактор роста (IGF). Такой «коктейль» из факторов роста играет ключевую роль в регуляции процесса регенерации тканей^[31–33]. После активации тромбоцитов ФР высвобождаются из α-гранул посредством экзоцитоза во внеклеточную среду. За первые 10 минут тромбоциты секретируют около 70% ФР, и далее в течение часа происходит практически полное их высвобождение. Синтез дополнительного количества ФР тромбоцитами продолжается еще на протяжении не менее 7 дней, после чего они завершают свой жизненный цикл^[34].

Высвобожденные после активации тромбоцитов ФР связываются с соответствующими трансмембранными рецепторами, расположенными на поверхности фибробластов и других клеток, и стимулируют их функции. При этом они индуцируют внутриклеточные пути передачи сигналов, которые, в свою очередь, индуцируют экспрессию генов, участвующих в пролиферации клеток, образовании МКМ, синтезе коллагена и т. д.^[30–34].

Заключение

Каждый этап рассмотренной выше комплексной программы коррекции возрастных изменений кожи предполагает применение определенного метода для целенаправленного решения определенной задачи, связанной с фундаментальными патофизиологическими процессами, происходящими в коже на молекулярно-клеточном уровне при старении. Фракционный неаблятивный лазерный фототермолиз позволяет восстановить структурную целостность МКМ дермы, SPRS-терапия — восполнить уменьшившийся с возрастом пул дермальных фибробластов, PRP-терапия — активизировать затем их функции. Каждый из этих методов, бесспорно, может быть эффективно использован и в качестве монотерапии. Однако именно последовательное воздействие всеми указанными методами на молекулярно-клеточные процессы старения позволяет потенцировать клинический эффект омоложения кожи и достичь его значительной «долговременности». Важно, что представленная программа строится с обязательным учетом особенностей кожи конкретного пациента, в частности индивидуальных параметров ее регенераторного потенциала^[10].

Мы применяем представленную программу уже более 3 лет. Алгоритм ведения пациентов по ее завершении составляем также с учетом регенераторного потенциала кожи каждого пациента. ○

Литература

- Хертель Б. Молекулярные и клеточные механизмы естественного старения и фотостарения (стрессорные факторы, защитный механизм). *Косметика и медицина*. 2000, № 4, 5–17.
- 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-β/Smad and p38 MAPK signaling pathway. *Medical Hypotheses*. 2011; 76: 343–346.
- Fisher G., Kang S., Varani J. et al. Mechanism of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*. 2002, 138, 1462–1467.
- 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.
- 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.
- Sorrell M., Caplan A.L., Fibroblasts — a diverse population at the center of it all. *International Review of Cell and Molecular biology*. 2009, v. 276, 161–214.
- 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, Vol. 168, № 6, 1861–1868.
- Reed M.J., Ferara N.S., Vernon R.B. Impaired migration, integrin function, and actin cytoskeletal organization in dermal fibroblasts from a subset of aged human donors. *Mech. Ageing Dev*. 2001; 122 (11): 1203–20.
- Зорина А., Деев Р., Зорин В., Черкасов В. Старение кожи, опосредованное фибробластами. Возможности терапевтической коррекции. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2011; 5: 43–51.
- Зорина А., Зорин В. Регенераторный потенциал кожи. Определение и применение в косметологической практике. *Облик. Esthetic Guide*. Ноябрь 2015; 58–61.
- Varani J., Warner R., Gharraee-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 InvestDermatol*. 2000, 114, 480–486.
- Жукова О., Потеев Н., Стенько А., Бурдина А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клиническая дерматология и венерология*. 2009. № 3, стр. 4–9.
- Омельяненко Н.П., Слуцкий А.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия)/под ред. акад. С.П. Миронова. В 2 тт. Т. 1. М.: Издательство «Известия», 2009. С. 69–70.
- Zouboulis C., Makrantonaki E. Clinical aspect and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in dermatology*. 2011, 29, 3–14.
- Fisher G., Varani J. and Voorhees J. Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications. *Arch Dermatol*. 2008, 144, 5, 666–672.
- Situm M., Buljan M., Cavka V. et al. Skin Changes in the Elderly People — How Strong is the Influence of the UV Radiation on Skin Aging? *Skin Aging and the UV Radiation*, Coll. Antropol. 2010; 34 (2): 9–13.
- Kohl E., Steinbauer J., Landthaler M., Szeimies R-M. Skin ageing. *J EADV*. 2011. 1–2.
- Han K-H., Choi H.R., C-H Won et al. Alteration of the TGF-β/SMAD pathway in intrinsically and UV-induced skin aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 126 (2005) 560–567.
- Lavker R., Zheng P., Dong G. Aged skin: a study by light, transmission electron, and scanning electron microscopy. *J Invest Dermatol*. 1987, v. 88, 44–51. Review.
- Kasper M., Funk R. Age-related changes in cells and tissues due to advanced glycation end products (ages). *Arch. Gerontol. Geriatr*. 2001, 32, 233–243.
- 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.
- Orringer J., Kang S., Johoson T. Connective tissue remodeling induced by carbon dioxide laser resurfacing of photodamaged human skin. *Arch. Dermatol*. 2004. V. 140. 1326–1332.
- Orringer J., Rittie L., m Hamilton T. Intraepidermal erbium: YAG laser resurfacing. *J. Am Acad Dermatol*. 2011, 119–128.
- Исаев А.А., Приходько А.В., Зорин В.Л. 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 21.07.2010.
- Зорин В., Зорина А., Черкасов В. Аутологичные фибробласты в коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи // *Эстетическая медицина*. 2011. Т. X, № 2, 3–9.
- Zorin V., Zorina A., Cherkasov V. et al. Clinical-instrumental and morphological evaluation of the effect of autologous dermal fibroblasts administration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2014 Dec 19. doi: 10.1002/term. 1976. [Epubaheadofprint]
- Зорина А.И., Зорин В.Л., Черкасов В.Р., Исаев А.А. Метод коррекции возрастных изменений кожи с применением аутологичных дермальных фибробластов. *Клиническая дерматология и венерология*. 2013; 3: 30–37.
- Зорина А., Зорин В., Черкасов В. SPRS-терапия при коррекции возрастных изменений кожи // *Облик. Esthetic Guide*. Июль 2013; 44–49.
- Сисоева В.Ю., Рубина К.А., Калинина Н.И. и др. Аутологичные фибробласты дермы: перспективы применения в медицине // Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения/под ред. В.А. Ткачука. Руководство для врачей. М.: «Литтерра», 2009. с. 222–233.
- Marx R. Platelet — rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? // *Implant dent*. 2001. 10. P. 225.
- Arshdeep, Kumaran M. Platelet-rich plasma in dermatology: Boon or a bane? *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2014; 80: 5–14.
- Sommeling C., Heyneman A., Hoeksema H., Verbelen J. et al. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: A systematic review // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2013. V. 66. P. 301–312.
- Зорина А., Зорин В. Применение препаратов PRP в косметологии. Инъекционные методы в косметологии. 2015; 4: 10–23.
- Marx R. Platelet — rich plasma: evidence to support its use // *J. Oral Maxillofac. Surg*. 2004. 62. P. 489–496.