

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ДЕРМАТОКОСМЕТОЛОГИЯ

5
2011

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

www.rusvrach.ru

ВЛИЯНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ
НА ПОКАЗАТЕЛИ
БИОЛОГИЧЕСКОГО
ВОЗРАСТА

ВЫБОР МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ
ФОРМАМИ ПСОРИАЗА
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ИММУНОДЕПРЕССИВНЫХ
СРЕДСТВ

ВОССТАНОВЛЕНИЕ
НОГТЕВОЙ ПЛАСТИНЫ
С ПОМОЩЬЮ
ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ
ПЛАСТИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ

В Н О М Е Р Е

ИЗДАТЕЛЬСКИЙ
ДОМ
РУССКИЙ ВРАЧ



ISSN 1990-4908

СТАРЕНИЕ КОЖИ, ОПОСРЕДОВАННОЕ ФИБРОБЛАСТАМИ. ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

А.И. Зорина, канд. мед. наук, Р.В. Деев, канд. мед. наук,
В.Л. Зорин, канд. биол. наук, В.Р. Черкасов, канд. хим. наук
Институт стволовых клеток человека, Москва

E-mail: doc_zorin@pisem.net

Представлен обзор отечественной и зарубежной литературы о старении кожи, опосредованном дермальными фибробластами. Обсуждаются изменения, ассоциированные как с хронологическим, так и фотостарением, в популяции фибробластов кожи, их цитофизиологии и окружающем клетки коллагеновом матриксе. Приведен краткий обзор современных методов коррекции возрастных изменений кожи.

Кожа – индикатор старения организма, поскольку изменения, связанные с процессом старения, отражаются на состоянии кожи [66, 73]. Старение кожи, как и организма в целом, представляет собой сложный биологический процесс, в котором участвует множество факторов, включая генетические, эпигенетические и факторы окружающей среды. При этом особую роль играет ультрафиолетовое облучение (УФО) [21, 30, 31, 66].

Выделяют 2 основных типа старения кожи: внутреннее (хронологическое) и внешнее (фотостарение). Каждый из них имеет свои клинко-морфологические особенности. Стареющая, но не подвергавшаяся длительному воздействию солнечных лучей, кожа характеризуется истончением, снижением эластичности и упругости, бледностью, наличием тонких поверхностных морщин (см. таблицу) [15]. При фотостарении, которое может наблюдаться еще до появления признаков хронологического старения, кожа утолщается, грубеет, становится более сухой, в ней формируются глубокие морщины, телеангиэктазии, иррегулярные пигментации и солнечные лентиго [83] (см. таблицу). В отличие от хронологического старения, представляющего собой генетически детерминированный процесс, фотостарение напрямую зависит от степени воздействия УФО и генетически предопределенной степени пигментации кожи [29, 52]. Его часто рассматривают как ускоренный процесс хронологического старения [30]. Кожа открытых областей (лица, шеи, рук) подвергается воздействию окружающей среды, и происходящие в ней деструктивные процессы (в частности, в результате УФО) наклады-

ваются на процессы хронологического старения, ускоряя его развитие [73].

Несмотря на разную этиологию, оба типа старения имеют общие фундаментальные молекулярные механизмы, ассоциированные с нарушением гомеостаза основного структурного компонента кожи, составляющего 90% ее сухой массы, – коллагена [29, 30, 31, 71, 74]. Продукция коллагена у старых людей (80 лет и старше) по сравнению с кожей молодых людей (18–29 лет) снижается примерно на 75% [72], а уровень деградации коллагена (как и при фотостарении) повышается на 75% [29]. Причем наблюдается параллельное снижение содержания коллагена I и III типов, уменьшение соотношения количества III типа коллагена к коллагену 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% [28]. При этом возврат к норме наблюдается в течение 48–72 ч. 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 [39]. Изменения структуры, организации и содержания коллагена дермы, наблюдающиеся как при хронологическом, так и фотостарении, приводят к нарушению опорного каркаса кожи и служат одной из основных причин образования морщин [30, 57, 66, 75].

В фотоповрежденных областях общие для обоих типов старения кожи признаки усиливаются специфическими изменениями в ответ на УФО, в частности массивным эластолизом [10]. В фотоповрежденной 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. Вследствие этого наблюдается формирование неполноценных укороченных эластических волокон. Одновременно усили-

Ключевые слова:
хронологическое старение, фотостарение, молекулярные механизмы старения, деградация коллагенового матрикса, аутогенные дермальные фибробласты

Key words:
chronological aging, photoaging, molecular mechanisms of aging; collagen matrix, autogenic dermal fibroblasts

Морфологические изменения в коже при хронологическом и фотостарении*

Хронологическое старение	Фотостарение
Эпидермис	
Уменьшение толщины на 10–50%, атрофия шиповатого слоя	Реактивное увеличение толщины эпидермиса с исходом в атрофию
Снижение митотической активности, увеличение продолжительности клеточного цикла и миграционного времени кератиноцитов	Нарушение пролиферации, дифференцировки, десквамации и апоптоза кератиноцитов
Снижение высоты сосочков	Снижение высоты сосочков
Снижение меланогенеза	Усиление меланогенеза
Снижение количества клеток Лангерганса, снижение процессов обновления липидов	Значительное снижение количества клеток Лангерганса
Дерма	
Уменьшение толщины, снижение количества фибробластов, атрофия межклеточного матрикса	Редукция якорных волокон
Уменьшение, деградация и дезинтеграция коллагеновых и эластических волокон, уменьшение содержания гликозаминогликанов и протеогликанов, отложение амилоида	Уменьшение, деградация и дезинтеграция коллагеновых волокон, аккумуляция аномальных эластических волокон (эластоз), повышение содержания дисфункциональных гликозаминогликанов и протеогликанов
Уменьшение количества и размеров сосудов	Значительная регрессия и дезорганизация мелких кровеносных сосудов, увеличение толщины стенок посткапиллярных венул, артериальных и венозных капилляров
Уменьшение придатков кожи (сальных, потовых и апокриновых желез), уменьшение количества нервных окончаний	
Увеличение количества мастоцитов	Увеличение количества мастоцитов и нейтрофилов
Гиподерма	
Уменьшение количества подкожного жира	

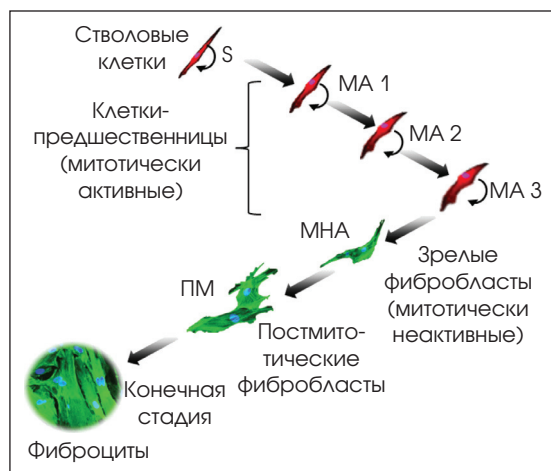
*По Zouboulis С., Makrantonaki E., 2010; Хертель Б., 2000; Аравийской Е., 2004.

вается экспрессия протеогликана версикана, который в значительном количестве откладывается на образовавшемся аномальном эластическом материале [39, 47]. Эта массивная аккумуляция эластоидных масс в верхнем и среднем слоях дермы, наряду с повышенной деградацией коллагена, является главным патогистологическим признаком фотостарения кожи [74].

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 [29, 30, 66, 72]. Так, для хронологического старения характерно изменение и пролиферативной, и биосинтетической активности фибробластов дермы, для фотостарения – преимущественно биосинтетической [39]. Известно, что фибробласты дермы – это гетерогенная клеточная популяция, включающая весь фибробластический дифферон (рис. 1) – от стволовой стромальной клетки (мультипотентной мезенхимной стромальной клетки), прогениторных клеток (клеток-предшественниц), зрелых фибробластов до конечно дифференцированного фиброцита. Таким образом, они являются основными эффекторами в физиологии кожи [66]. Фибробласты дермы контролируют состав и структуру межклеточного матрикса (МКМ) путем регулируемого по принципу обратной связи синтеза коллагена, эластина и основного вещества, а также путем участия в разрушении этих компонентов [2]. Поэтому нарушение физиологического баланса в этой клеточной популяции приводит к значительным изменениям как в микро-, так и макроструктуре кожи.

Рис. 1. Общая схема фибробластического дифферона дермы



Дегенерация дермальных фибробластов

Изменения внутри клеточного дифферона дермальных фибробластов. По мере старения в структуре фибробластического дифферона кожи происходит уменьшение численности их клеток. J. Varani и соавт. (2006), исследуя биоптаты защищенной от УФО кожи молодых (18–29 лет) и старых людей (80 лет и старше), выявили общее снижение фибробластов в коже старых людей в среднем на 35% [57]. По мнению С. Zouboulis и соавт. (2008), причина уменьшения численности популяции фибробластов дермы с возрастом – ослабление процесса мобилизации стволовых клеток или уменьшение числа стволовых клеток, способных отвечать на стимулирующие к пролиферации сигналы [84]. Это неизбежно приводит к снижению количества дифференцированных клеток [63]. Возмещение утраченных клеток у пожилых людей происходит лишь частично [10]. Другая причина уменьшения популяции фибробластов дермы, по данным многочисленных исследований, – снижение их пролиферативного потенциала, а также апоптоз [10, 24, 39, 79]. Данные изменения в клеточной популяции происходят в результате реализации генетической программы, определяющей стабильность генома и динамику экспрессии различных генов на разных стадиях онтогенеза [10]. Так, с возрастом в фибробластах отмечается активация гена TP53, контролирующего репликативное старение клеток [12]. 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.

Изменение цитофизиологии фибробластов дермы. С возрастом наблюдается увеличение линейных размеров фибробластов, повышение содержания белков цитоскелета и их уплотнение (даже при световой микроскопии культур таких клеток становятся заметными актиновые фибриллы, располагающиеся близко друг к другу и формирующие «пласт» на вентральной стороне цитоплазмы), увеличивается удельное содержание микротрубочек и их организационных центров, промежуточных филаментов, образующих фибриллярные структуры в виде слоев и тяжей [58]. С. Schulze и соавт. (2010), исследуя вязкоэластические свойства фибробластов дермы, обнаружили возрастное увеличение их ригидности (на 60% при сравнении доноров от 27 лет до 81 года), связанное с

замещением мономерного G-актина на полимеризованный F-актин [61]. Выявленные изменения цитоскелета фибробластов могут способствовать нарушению миграционных способностей (показано статистически значимое замедление миграции фибробластов из биоптатов кожи на поверхность культурального пластика у пожилых людей), а также их фокальных контактов с коллагеновым МКМ, что приводит к снижению пролиферативной и биосинтетической активности клеток [60, 67].

Наблюдаемые с возрастом изменения в дермальных фибробластах носят селективный характер. Как показали S. Mine и соавт. (2008), изучив характеристики папиллярных и ретикулярных фибробластов дермы на тканевом и клеточном уровнях, с возрастом в первую очередь значительные морфологические и функциональные изменения претерпевают фибробласты папиллярного слоя дермы (ФП). У пожилых людей ФП становятся более гетероморфными по размеру и росту в культуре, снижается их клоногенный потенциал, меняется уровень секреции различных белков (в частности, увеличивается продукция матриксдеградирующих металлопротеиназ, уменьшается продукция ингибиторов этих металлопротеиназ) [51].

Согласно результатам многочисленных исследований, фибробласты человека имеют ограниченную продолжительность жизни [23–25, 37, 48, 60, 64]. Так, при культивировании *in vitro* фибробласты пожилых доноров, по сравнению с молодыми подвергаются более быстрому старению, один из основных показателей которого – снижение скорости удвоения культуры [60]. Наблюдается также отставание и в числе клеточных делений: фибробласты молодых доноров характеризуются большим количеством митозов (в 2 раза), благодаря чему 1 клетка (и таких клеток – 60%) способна образовать колонию в 256 и более фибробластов, а у пожилых доноров – лишь 2% клеток формируют колонии подобного объема [60, 64]. Это свидетельствует о том, что фибробласты после прохождения определенного количества делений (лимит Хейфлика) теряют способность к пролиферации и вступают в период клеточного старения [37]. 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» [79]. Наряду с необратимой оста-

**Фибробласты
дермы – это
гетерогенная
клеточная
популяция,
включающая весь
фибробластический
дифферон**

новкой роста такие клетки характеризуются нарушением дифференцировочных функций [20], резистентностью к апоптозу [79], изменением морфологии и биосинтетической активности [40].

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 S1: c-fos-proto-oncogene [62], Id-1, Id-2 компонентов транскрипционного фактора E2F [36]. В то же время экспрессия генов, кодирующих негативные регуляторы роста p21 и p16 (ингибиторы циклин-зависимых протеинкиназ), значительно повышена [35]. Кроме того, старению фибробластов способствует снижение с возрастом антиоксидантной активности, в частности тиоредоксина – «вездесущего» многофункционального тиолового белка, участвующего в антиоксидантных механизмах защиты клеток. Установлено, что супрессия тиоредоксина индуцирует преждевременное старение фибробластов, выделенных из кожи молодых людей [85]. Таким образом, нарушение экспрессии генов приводит к развитию значительных изменений в дермальных фибробластах, и эти изменения настолько серьезны, что в результате происходит полная перестройка физиологии клеток, а в итоге формируется популяция клеток с «фенотипом старения» [10].

По мнению многих исследователей, одним из основных механизмов, вызывающих

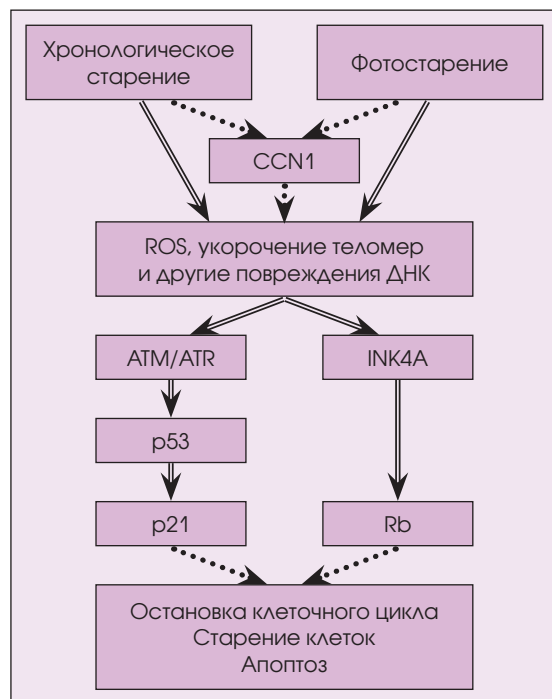
репликативное старение фибробластов (не экспрессирующих, как и остальные соматические клетки, фермент теломеразу), является укорочение длины теломер – концевых отделов хромосом [17, 19, 44, 48, 68]. Теломеры представляют собой повторяющиеся последовательности 6 пар оснований TTAGGG, необходимых для поддержания целостности генома клетки [17, 19]. Длина теломер фибробластов кожи человека с каждым делением клетки уменьшается приблизительно на 150 оснований [44], что способствует ограничению числа клеточных делений, составляющих в среднем 50±10 [37]. Полагают, что укорочение длины теломер действует подобно митотическим часам, отсчитывающим количество клеточных делений [48].

Критическое укорочение длины теломер приводит к активации субтеломерных генов, которые, в свою очередь, инициируют ответ клетки на повреждение ДНК: остановку клеточного цикла, фенотип старения клетки или ее апоптоз (в зависимости от физиологического состояния клетки) [27, 44, 71, 72]. Определяющую роль в этом процессе играет транскрипционный фактор p53, регулирующий клеточный цикл. Каким именно образом p53 влияет на процесс старения – через запуск апоптоза, остановку репарации клетки или через все вышеупомянутые механизмы, пока остается неизвестным. Одно несомненно – клеточное старение связано с функционированием белка p53, образное название которого – guardian of the genome («хранитель генома») [77]. Известно, что в процессе старения активность p53 значительно возрастает; в фибробластах молодых людей данный белок содержится практически в следовых количествах [69]. Н.Vaziri и соавт. (1996) обнаружили 10-кратное увеличение p53 в культуре фибробластов дермы, характеризующейся «фенотипом старения» [76]. Одной из основных транскрипционных мишеней p53 является ингибитор циклин-зависимых киназ – белок p21, посредством которого p53 осуществляет ответ на повреждение ДНК (рис. 2). Одновременно с этим отмечено, что экспрессия p21 в процессе репликативного старения может регулироваться и по p53-независимому сигнальному пути – p16/Rb, через ингибицию участвующих в фосфорилировании pRb циклиновых киназ семейства CDK (CDK2 и CDK4).

Помимо уменьшения длины теломер, необратимую остановку клеточного цикла могут инициировать и другие повреждения ДНК, вызываемые как внешними (УФО, генотоксические вещества), так и внутренними (репликативные ошибки, спонтанные

При старении изменения дермы непосредственно связаны с ее основным клеточным компонентом – фибробластами

Рис. 2. Схема основных биохимических и сигнальных путей, участвующих в развитии хронологического и фотостарения



точечные мутации и др.) причинами [40, 76]. Одним из факторов, запускающим данные процессы, является оксидативный стресс, который играет важную роль в развитии обоих типов старения кожи [43]. Оксидативный стресс определяется аккумуляцией активных форм кислорода в перекисных соединениях и снижением антиоксидантной активности клеток [34, 43, 85]. Взаимосвязь между внутриклеточными активными формами кислорода и старением клеток подтверждена результатами экспериментов, в которых установлено, что увеличение в культуре концентрации H_2O_2 вызывает быструю остановку пролиферации клеток [22], а также индукцию преждевременного старения фибробластов, выделенных из кожи молодых людей [48]. Выявлено, что дермальные фибробласты пожилых людей, по сравнению с молодыми, проявляют большую чувствительность к оксидативному стрессу.

При хронологическом старении основным источником активных форм кислорода (в отличие от фотостарения, где они образуются в результате воздействия на кожу УФО) являются митохондрии клеток, в которых эти соединения образуются в результате аэробных энергетических процессов [16]. Активные соединения кислорода, повреждая ядерную ДНК, вызывают индукцию сигнальных путей (p53/p21 и p16/Rb), что приводит к необратимой остановке клеточного цикла [63] и (или) другим вариантам ответа (см. рис. 2). Данные соединения способны оказывать также и непосредственное влияние на органеллы клетки, в частности, вызывать модификацию клеточных белков [22], что способствует снижению клеточных функций и окислению клеточной мембраны, приводящих к снижению эффективности трансмембранного транспорта и повреждению трансмембранных сигнальных путей [39].

Установлено, что одним из медиаторов, участвующих в генерации и аккумуляции активных форм кислорода, а также в индукции сигнальных путей репликативного старения дермальных фибробластов, служит матрицеллюлярный белок CCN1 (Cyr61 – cystein-rich protein 61), участвующий в регуляции ряда функций фибробластов путем интегринопосредованного механизма [40, 56]. CCN1, соединяясь с поверхностными клеточными рецепторами, ассоциированными с клеточной адгезией (α 6-интегрин, β 1-интегрин и протеогликан гепарансульфат), активирует оба сигнальных пути старения кожи – и ответ на повреждение ДНК – p53, и стрессзависимый p16/p Rb (см. рис. 2). Выявлено значительное повы-

шение уровня экспрессии CCN1 в коже при обоих типах старения [56].

Следовательно, ключевые молекулярные механизмы старения популяции фибробластов дермы, а соответственно, и старения кожи – 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.

Дегградация 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 [10]. Прежде всего эти изменения затрагивают основной структурный белок дермы – коллаген [85].

По мнению ведущих исследователей, нарушение гомеостаза коллагенового матрикса – отличительная характеристика кожи при обоих типах старения [30, 72]. В основе этих изменений лежит молекулярный механизм активации в фибробластах транскрипционного фактора AP-1 (транскрипционного

Аутогенные фибробласты кожи применяются для коррекции морщин и рубцов-постакне

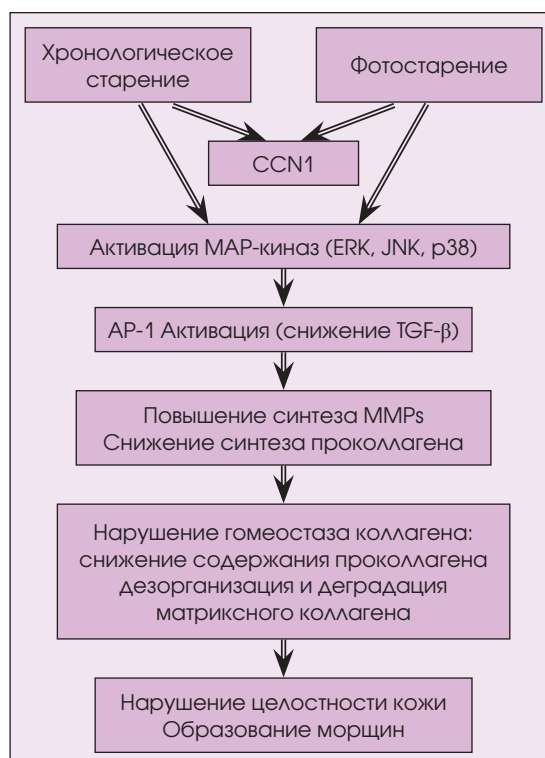


Рис. 3. Схема основных сигнальных путей, участвующих в процессе нарушения гомеостаза коллагена

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. 3) [29]. AP-1, регулируя гены, кодирующие специфические ферменты – матриксдеградирующие металлопротеиназы MMP-1, MMP-3 и MMP-9, индуцирует повышение их экспрессии [10, 33, 68]. Вследствие этого происходит деградация (фрагментация) матриксного коллагена дермы [43]. Активация AP-1 сопровождается снижением синтеза проколлагенов I и III типов (за счет блокировки эффектов трансформирующего фактора роста TGF- β , способствующего биосинтезу коллагена) [29]: наблюдается редукция экспрессии TGF- β /Smad – сигнального пути и его мишени – соединительнотканного фактора роста CTGF/CCN2, представляющего собой физиологический регулятор экспрессии коллагена. Так, в фибробластах кожи пожилых людей, по сравнению с молодыми, выявлено значительное снижение комплекса TGF- β /Smad/CTGF [43, 85], снижение экспрессии генов проколлагена, повышение экспрессии генов MMP-s [34].

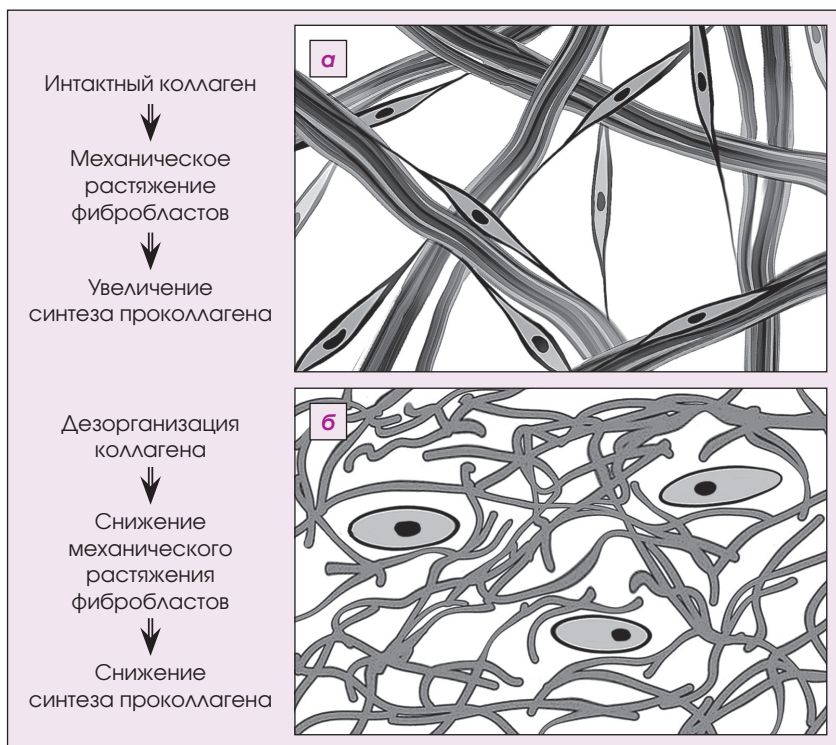
Триггерами активации AP-1 в клетках при обоих типах старения служит индукция MAPK (mitogen-activated protein kinases: ERK, extracellular signal-related kinase, JNK,

c-Jun amino-terminal kinase и p38-kinase), а также продуцируемый фибробластами негативный регулятор синтеза коллагена матрицеллюлярный белок CCN1 [29, 40, 56, 55]. При фотоповреждении данный процесс усугубляется еще и вследствие непосредственной активации AP-1 ультрафиолетовыми лучами [29].

Итак, с увеличением возраста (к 80 годам), по сравнению с людьми 18–29 лет, наблюдается снижение продукции коллагена (в среднем в 3 раза) [72], повышение уровня фрагментированного коллагена (в среднем также в 3 раза) [29]. Меняется и структура коллагена: он становится значительно более жестким и более беспорядочно ориентированным [46]. 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 сахарами и аминокетонами долгоживущих белков-коллагенов), накапливающиеся с возрастом в МКМ [10, 42].

Состояние коллагенового матрикса оказывает также значительное влияние на функции фибробластов [30]. Согласно F. Grinnell (2003), физические свойства коллагеновых волокон оказывают непосредственное влияние на функциональную активность фибробластов дермы [32]. В частности, фрагментация коллагенового матрикса приводит к нарушению целостности коллагеновой сети МКМ, что сопровождается нарушением фокальных контактов между фибробластами и коллагеновым матриксом, что лишает фибробласты возможности находиться в растянутом состоянии, которое необходимо для их метаболической активности (роста и функционирования) (рис. 4) [71, 73]. Исследования по измерению механической силы, создаваемой фибробластами, проведенные в трехмерной коллагеновой камере, подтверждают, что снижение синтеза коллагена и повышение продукции металлопротеиназ является следствием уменьшения механического растяжения клеток [26].

Механизм данного феномена заключается в следующем: содержащиеся на клеточной поверхности фибробластов интегрины (гетеродимерные трансмембранные белки) специфически связаны с белками матрикса, в частности с коллагеном I типа [10, 29]. Интегрины покрывают всю клеточную поверхность, и их адгезия (прикрепление) к коллагеновому матриксу способствует обра-



■ **Рис. 4.** Взаиморасположение фибробластов и коллагеновых волокон в дерме [71]: а – в «молодой» коже (18–29 лет); б – в «старой» коже (80 и более лет)

зованию связей как с матриксом, так и белком цитоскелета фибробластов — актином. Таким образом, интегрин с наружной поверхности клетки соединяется с коллагеновым матриксом, а с внутренней — цитоскелетом, что приводит к образованию комплексов фокальной адгезии (фокальных контактов) [10], осуществляющих тесно связанные между собой регуляторную и механическую функции фибробластов [30]. Образование этих комплексов приводит к индукции каскада внутриклеточных сигнальных путей, которые регулируют метаболизм фибробластов, включая баланс между продукцией коллагенов и их деградацией посредством MMP-s. Благодаря фокальным контактам фибробласты имеют возможность «распластываться» на коллагеновом матриксе, что позволяет внутриклеточным микрофиламентам цитоскелета оказывать на матрикс механическое давление. При этом микрофиламенты цитоскелета, расположенные на внутренней поверхности клеточной мембраны и в цитоплазме, физически сцеплены с интегринами и используют это сцепление для натяжения коллагеновой сети [29]. Внутреннее натяжение актин-миозиновых микрофиламентов активизирует комплекс внутриклеточных микротрубочек и промежуточных филаментов, что способствует образованию давления извне. Создается баланс между внешним давлением и внутренним натяжением актин-миозиновых микрофиламентов, в результате чего устанавливается динамическое натяжение между фибробластами и коллагеновым матриксом. Вследствие этого осуществляется адекватное растяжение фибробластов и их функционирование, включая синтез коллагена и других компонентов МКМ [30]. Снижение механического натяжения, наблюдаемое с возрастом из-за нарушения структурной целостности коллагенового матрикса, приводит к снижению фокальной адгезии фибробластов к коллагеновому матриксу и нарушению механической резистентности самих коллагеновых волокон. В результате снижается механическое натяжение между фибробластами и коллагеновым матриксом, нарушается баланс между внутренним натяжением в фибробластах и давлением на них извне. Вследствие этого клетки теряют способность к растяжению, соответственно, снижается продукция ими коллагена, одновременно продукция MMP-s, напротив, увеличивается, что способствует еще большей дезорганизации коллагена. Создается порочный круг, поддерживающий механизмы старения кожи [30].

Таким образом, наблюдающиеся при обоих типах старения изменения дермы непосредственно связаны с ее основным клеточным компонентом — фибробластами и синтезируемым ими межклеточным матриксом. Фибробласты — «архитекторы и строители» матрикса. Однако многостороннее влияние матрикса на фибробласты настолько значительно, что правильнее рассматривать его не как взаимодействие, а как взаимозависимость [10]. Зная молекулярные механизмы и патофизиологию процессов при старении, можно целенаправленно применять существующие в эстетической медицине методы, чтобы эффективно и безопасно корректировать сопровождающие старение структурные дефекты кожи. Представим косметологические методы, позволяющие remodelировать микроструктуру дермы.

Коррекция возрастных изменений кожи

Аутогенные дермальные фибробласты.

Прогениторные клетки пула дермальных фибробластов (см. рис. 1) имеют достаточно высокий пролиферативный потенциал: первичные культуры, полученные даже от очень пожилых людей (95 лет), содержат до 14% митотически активных фибробластов [1]. С увеличением возраста в популяции дермальных фибробластов, находящихся под контролем генетических и эпигенетических факторов, отмечается снижение пролиферативного потенциала [10, 24, 39, 79]. В условиях *in vitro* этот контроль, по всей видимости, нивелируется (или ослабевает) и наблюдается стимуляция митотической активности клеток-предшественников фибробластов [1]. Данному процессу в немалой степени способствуют и ростовые факторы/цитокины, входящие в состав стандартной питательной среды, используемой при культивировании фибробластов [45, 50]. В результате в условиях культивирования *in vitro* из небольшого биоптата кожи (размером 3–5 мм) можно получить необходимое для проведения эффективной клеточной терапии количество функционально активных фибробластов. Культуры дермальных фибробластов способны активно синтезировать компоненты межклеточного матрикса, включая коллаген, эластин, гликозаминогликаны, факторы роста [8, 9, 14, 65]. После трансплантации в кожу биосинтетические потенциалы культивированных клеток сохраняются, и они активно в течение длительного времени способны продуцировать компоненты межклеточного матрикса дермы [3, 5, 9, 14, 82]. Клеточный материал вводится по

Длительное применение витамина А улучшает состояние кожи как при хронологическом, так и при фотостарении

специальной методике: интрадермально, тоннельным способом, с помощью специальных игл (30G, 13 мм), двукратно. Это позволяет равномерно с адекватной плотностью на всем участке кожи, требующей коррекции, пополнить пул резидентных фибробластов функционально активными клетками [3, 5, 18, 80, 81]. При этом отмечается стимуляция активности и самих резидентных фибробластов [14]. В результате наблюдается ремоделирование микроструктуры кожи: увеличивается содержание коллагеновых и эластических волокон, гидратация и объем дермы, усиливаются эпидермальный морфогенез и гемомикроциркуляция [3, 4, 5]. Клинический эффект носит постепенно нарастающий (на протяжении 12–24 мес) характер [18].

Впервые специалисты американской компании Isolagen (ныне Fibrocell) [18, 80, 81] в 1995 г. применили аутогенные фибробласты кожи для коррекции морщин и рубцов-постакне, доказав безопасность и клиническую эффективность технологии. В июле 2011 г. компания получила лицензию FDA на официальное применение аутофибробластов в эстетической медицине. В России сходная технология разрешена Росздравнадзором РФ к применению с июля 2010 г. [6].

Препараты на основе гиалуроновой кислоты (ГК). ГК – один из главных компонентов основного вещества МКМ [70]. Благодаря способности связывать и удерживать за счет водородных связей большое количество воды ГК поддерживает гидратацию, тургор и эластичность кожи. С возрастом, как известно, содержание и распределение ГК значительно изменяются [10, 59]. Согласно многочисленным исследованиям, интрадермальное введение препаратов на основе стабилизированной и нестабилизированной ГК, помимо повышения объема и гидратации дермы, приводит к увеличению в проблемной области новообразованного коллагена [30, 78]. Процесс инициации неоколлагенеза может наблюдаться в результате следующих потенциально возможных механизмов.

- Рецепторопосредованной стимуляции фибробластов дермы через взаимодействие ГК с эндогенными клеточными рецепторами CD44 и RHAMM, посредством которых осуществляется ГК-опосредованная активность клеток, включая биосинтез коллагена и пролиферацию фибробластов [59].
- 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, – обязательное условие для функциональной активности клеток, в частности пролиферации фибробластов и биосинтеза коллагенов. Так, F. Wang (2007) в зонах введения стабилизированной ГК выявил механически растянутые синтетически-активные фибробласты [79]. K. Rock и соавт. (2010) в зонах введения нестабилизированной ГК обнаружили пролиферацию фибробластов [59].

- Активации трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) – важного индуктора синтеза коллагена [70].

Применение аблативного (температурное повреждение поверхностных слоев кожи) и **неаблативного** (фракционный фототермолиз, заключающийся в микроскопическом термальном фракционном повреждении дермы) **методов воздействия лазера на кожу** [30, 49, 53]. Процесс восстановления кожи после воздействия лазером (при обоих типах повреждения) протекает по механизму заживления ран: с ремоделированием коллагена и других компонентов МКМ дермы. Повреждение кожи лазером вызывает индукцию высокоорганизованного каскада молекулярных механизмов [54]; в 1-й фазе наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , что вызывает индукцию транскрипционного фактора AP-1 и, соответственно, сопровождается повышением уровня деградирующих МКМ металлопротеиназ MMP-1, -3, -9. Следствие этого – деградация фрагментированного коллагена. Следующая фаза – репаративная: пролиферация фибробластов, повышение уровня трансформирующего фактора роста TGF- β ; в результате – восстановление МКМ дермы, включая неоколлагенез I и III типов. Ремоделирование кожи и аккумуляция нового коллагена приводят к значительному улучшению состояния кожи [30, 49, 53, 54].

Витамин А и его метаболиты. Местное применение препаратов ретиноевой кислоты в концентрации 0,025–1% в течение от 1 до 12 мес за счет взаимодействия витамина А с регулирующими экспрессию генов клеточными рецепторами способствует увеличению в дерме уровня интактного коллагена [39, 41, 74, 75]. Применение препаратов ретиноевой кислоты приводит к ингибции синтеза транскрипционного фактора AP-1 (в частности, входящего в его состав компо-

**Ремоделирование
кожи и аккумуляция
нового коллагена
приводят
к значительному
улучшению
состояния кожи**

нента c-Jun, стимулирующего транскрипцию MMPs), что сопровождается уменьшением активности металлопротеиназ, а также снижением фрагментации матриксного коллагена. Одновременно наблюдается индукция экспрессии трансформирующего фактора роста TGF- β , индуцирующего экспрессию генов проколлагена I и III типов, что приводит к увеличению в дерме новообразованных коллагеновых волокон. Согласно результатам исследования *in vivo* (T. Quan et al., 2011), местное применение 0,4% витамина А в течение 7 дней значительно снижает экспрессию белка CCN1, что приводит к снижению деградации коллагена и увеличению его продукции [56]. При длительном применении витамина А аккумуляция нового и снижение деградации резидентного коллагена заметно улучшает состояние кожи как при хронологическом, так и при фотостарении.

Антиоксидантные препараты способствуют предотвращению генерации и аккумуляции в коже ROS, снижая индукцию стрессопосредованных сигнальных путей повреждения кожи. Антиоксиданты – витамины (аскорбиновая кислота, коэнзим Q 10 и витамин E) можно использовать и местно, и внутрь. Однако эндогенное применение данных препаратов более эффективно [43]. Так, витамин С, обладая фотопротекторными свойствами, служит также необходимым кофактором для биосинтеза коллагена. Коэнзим Q 10 снижает УФО-индуцированную продукцию MMPs [38]. Доказаны антиоксидантные свойства витамина E [70], причем его одномоментное применение с витамином С и коэнзимом Q 10 усиливает антиоксидантные свойства витамина E [70].

Применение вышеописанных методов и средств как в виде моно-, так и комбинированной терапии позволяет в течение длительного времени поддерживать кожу в хорошем состоянии.

ЛИТЕРАТУРА

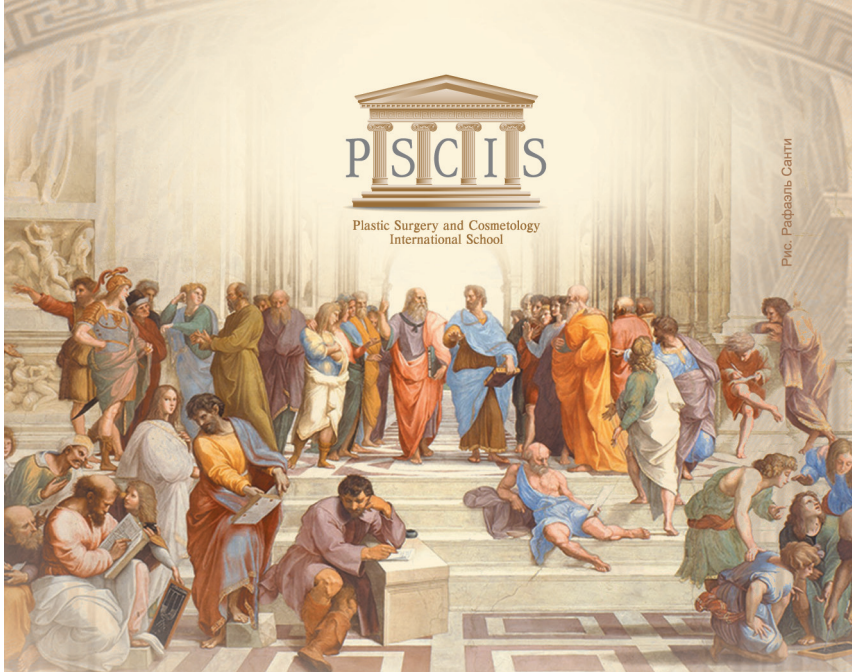
Список литературы см. на сайте www.rusvrach.ru

SUMMARY

FIBROBLAST-MEDIATED SKIN AGING. POSSIBILITIES OF THERAPEUTIC CORRECTION

A.I. Zorina, Cand. Med. Sci.; R.V. Deyev, Cand. Med. Sci.; V.L. Zorin, Cand. Biol. Sci.; V.R. Cherkasov, Cand. Chem. Sci. Institute of Human Stem Cells, Moscow

The paper reviews the Russian and foreign literature on skin aging mediated by dermal fibroblasts. It discusses both chronological and photo aging-associated changes in the population of skin fibroblasts, their cytophysiology and in the cell-adjacent collagen matrix. Current methods for the correction of age-related skin changes are briefly presented.



II Международная ШКОЛА пластической хирургии и косметологии

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА
ПО ЭСТЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

15-16-17 декабря 2011 года
Москва, ЦВК «Экспоцентр»
Краснопресненская наб., 14



ОРГАНИЗАТОРЫ:

Журнал «Пластическая хирургия и косметология»
Корпорация Эстетической Медицины «ОПТИМЕД»
www.pscj.ru



ПАРТНЕР ШКОЛЫ:



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРТНЕРЫ:



Контактный телефон: +7 (499) 142-64-01

участия в программе —
к Натальи Полонской
e-mail: school@pscj.ru

Обращаться по вопросам:
участия в выставке —
к Ирине Фомкиной
e-mail: if@pscj.ru

приобретения билетов —
к Наталье Андроной
e-mail: anv@pscj.ru