

Фибробласты кожи и эффективность анти-эйдж коррекции

ДЕРМАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ — ОСНОВНАЯ ЗОНА ИНТЕРЕСОВ МНОГИХ КОСМЕТИЧЕСКИХ МЕТОДИК. ИМЕННО ОТ «ПОВЕДЕНИЯ» ЭТОЙ КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВО МНОГОМ ЗАВИСИТ ВЫРАЖЕННОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПРОЦЕДУР. ОДНАКО РЕГЕНЕРАТОРНЫЙ И ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ФИБРОБЛАСТОВ — ПОКАЗАТЕЛЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ. КАК ЕГО ОПРЕДЕЛИТЬ? И КАКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФИБРОБЛАСТОВ ЦЕЛЕСООБРАЗНО ИСПОЛЬЗОВАТЬ?

АЛЛА ЗОРИНА, к.м.н., главный специалист по применению клеточных технологий Института стволовых клеток человека, Москва

Старение кожи, как и организма в целом, представляет собой сложный биологический процесс, на который влияет множество факторов,

включая генетические, эпигенетические, воздействие окружающей среды. Установлено, что в основе процессов, развивающихся в коже при старении, лежат фундаментальные изменения, связанные с основной клеточной популяцией дермы — фибробластами: их количеством, морфологией, пролиферативным потенциалом, функциональной активностью.

Фибробласты выполняют в коже целый ряд разнообразных и сложных функций. Они не только поддерживают гомеостаз межклеточного матрикса дермы, обеспечивая его ремоделирование и обновление (за счет деградации «отработанных» и синтеза новых компонентов дермы — коллагена, эластина и основного вещества), но также играют значительную

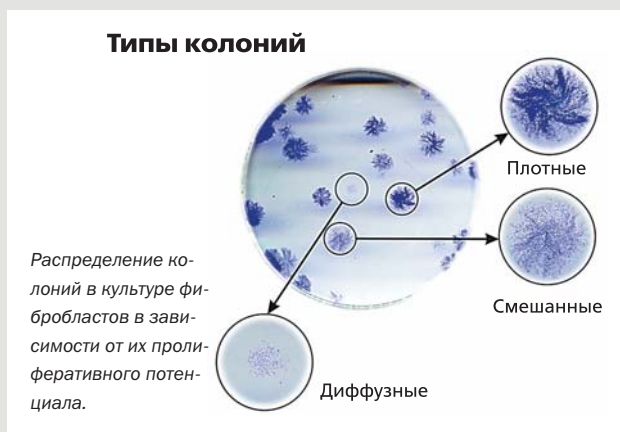
Как определяют пролиферативный потенциал фибробластов?

Известно, что прогениторные клетки дермы (согласно результатам исследования их цитоморфологии, пролиферативного потенциала и способности синтезировать специфические цитокины/факторы роста) разделяют на три типа клеточных популяций: МФI, МФII и МФIII (МФ — митотически активные фибробласты). При этом клеточный пул МФ I обладает самым высоким пролиферативным потенциалом, его клетки проходят около 25–30 клеточных делений перед дифференцировкой в клеточную популяцию МФII. В свою очередь, клетки пула МФII до перехода в пул МФIII совершают около 15–20 делений, а клетки пула МФIII перед дифференцировкой в ПМФ (постмитоти-

ческие фибробласты) осуществляют всего около 5–8 делений. Соответственно, в культуре митотически активные фибробласты образуют три вида колоний:

- плотные, состоящие из сотен и даже тысяч фибробластов (что, по всей видимости, соответствует стадии дифференцировки МА1);
- диффузные, состоящие из 50-100 клеток (что, видимо, соответствует стадии дифференцировки МА3);
- смешанные, состоящие из фибробластов, находящихся на стадиях дифференцировки МА1 и МА3.

По количественному соотношению клеточных колоний разных типов в культуре и составляют за-



ключение о пролиферативном потенциале фибробластов кожи каждого пациента. При этом, чем больше в культуре плотных колоний, тем выше у пациента пролиферативный потенциал популя-

ции дермальных фибробластов. И, соответственно, чем больше в культуре диффузных колоний, тем ниже пролиферативный потенциал популяции фибробластов кожи пациента.

ИНЪЕКЦИОННЫЕ МЕТОДЫ: ОТБОР ПАЦИЕНТОВ

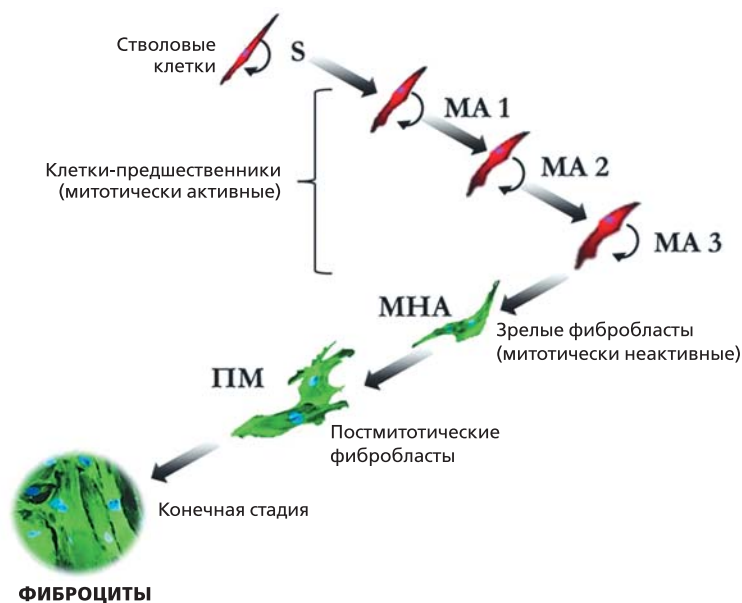


Рис. 1. Общая схема фибробластического дифферона дермы.

роль в поддержании физиологического состояния других слоев кожи, представляя собой ключевое звено в ее биологии.

С возрастом в популяции фибробластов кожи уменьшается численность клеток, снижается их биосинтетическая активность, нарушается баланс между процессами синтеза и деградации межклеточного матрикса дермы. Так, исследование J. Varani и соавт. (2006) показало, что у старых людей, по сравнению с молодыми, общее количество фибробластов в коже меньше в среднем на 35%. По данным G. Fisher и соавт., продукция коллагена в коже старых людей в среднем снижена на 75%. Естественное следствие этих процессов — уменьшение толщины кожи, снижение ее упругости и эластичности, образование морщин.

Таким образом, процесс возрастных изменений кожи сводится к уменьшению в ней численности популяции фибробластов и снижению их пролиферативной и биосинтетической активности, что закономерно проявляется в уменьшении количественного и качественного состава межклеточного матрикса дермы. В этой связи становится совершенно очевидным, что именно дермальные фибробласты представляют собой основ-

ную точку приложения терапевтического воздействия при коррекции возрастных изменений кожи.

Целью применения целого ряда методов — мезотерапии, биоревитализации, пилингов, фракционного фототермолиза, радиоволновой терапии, дермабразии и др. — является стимуляция функциональной активности дермальных фибробластов: пролиферативной, за которую отвечают клетки-предшественницы фибробластов, и

кого эффекта у разных пациентов одного пола и одной и той же возрастной группы при получении ими одинаковых косметологических процедур.

Знание величины регенераторного и пролиферативного потенциалов фибробластов дермы имеет большое значение, поскольку оно может помочь врачу-косметологу не только составить оптимальную программу ухода за кожей, но и прогнозировать выраженность клинического эффекта у того или иного пациента после применения какой-либо интрадермальной процедуры.

Как определить величину регенераторного и пролиферативного потенциала дермы?

Известно, что фибробласты — гетерогенная клеточная популяция, включающая весь фибробластический дифферон (рис. 1): от мультипотентной мезенхимной стволовой клетки, прогениторных клеток (клеток-предшественниц) и дифференцированных (зрелых) фибробластов до конечного дифференцированного фиброцита.

«Целью применения целого ряда методов — мезотерапии, биоревитализации, пилингов, фракционного фототермолиза, радиоволновой терапии, дермабразии и др. — является стимуляция функциональной активности дермальных фибробластов: пролиферативной, за которую отвечают клетки-предшественницы фибробластов, и биосинтетической, в которой главенствуют зрелые, дифференцированные клетки».

биосинтетической, в которой главенствуют зрелые, дифференцированные клетки. По всей видимости, именно содержание в дерме клеток-предшественниц и их способность к пролиферации определяют выраженность клиничес-

Это означает, что в дерме каждого человека присутствуют стволовые/прогениторные клетки, основная задача которых — поддержание клеточной популяции ткани. Обнаружить эти клетки можно в культуре, наблюдая процесс обра-

ИНЪЕКЦИОННЫЕ МЕТОДЫ: ОТБОР ПАЦИЕНТОВ

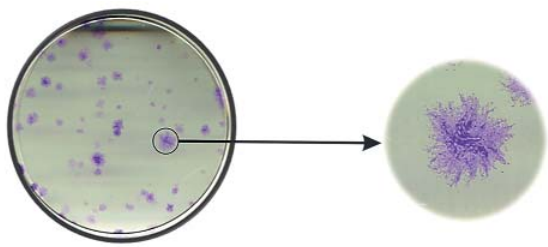


Рис. 2. Эффективность колониобразования (ЭКОф): слева — колонии выросших фибробластов; справа — одна из колоний при большем увеличении.

зования колоний — клонов, состоящих из 20–50 и более клеток (рис. 2). Для этого используется специфический метод определения эффективности колониобразования фибробластов — ЭКОф. Величина ЭКОф, как показали результаты клонального анализа культур дермальных фибробластов, не зависит от возраста — это генетически предопределенная величина, индивидуальная для каждого человека. ЭКОф характеризуется довольно высокими значениями, составляя в среднем $45,0 \pm 9,5\%$.

Определив эту величину, в пересчете на массу биоптата, можно получить представление о содержании в коже каждого человека стволовых/прогениторных клеток. Благодаря функционированию последних и осуществляется восстановление/обновление дермы. На основании значений ЭКОф можно сделать заключение об индивидуальном регенераторном потенциале дермы, то есть о способности популяции фибробластов кожи конкретного человека поддерживать гомеостаз ткани и восстанавливать ее при повреждении. Чем больше значение ЭКОф, тем больше в ткани клеток-предшественниц фибробластов, а значит, больше дифференцированных (зрелых) функционально активных фибробластов — следовательно, выше регенераторный потенциал ткани; и наоборот, чем меньше ЭКОф, тем ниже регенераторный потенциал ткани.

Наряду с исследованием регенераторных возможностей дермальных фибробластов пациента косметологу важно знать, каков

их пролиферативный потенциал (количество делений, которое клетки могут пройти до своей гибели). Его определяют по процентному соотношению долей плотных, диффузных и смешанных колоний в культуре фибробластов кожи пациентов. К сожалению, пока у косметологов нет таких диагностических возможностей на рабочем месте, однако можно взять биоптат кожи пациента и отправить в специализированную лабораторию для исследования потенциала фибробластов. Очевидно, чем выше пролиферативный потенциал клеток, составляющих данную ткань, тем больше в них митотически активных клеток и, следовательно, тем быстрее будут осуществляться регенеративные процессы.

Функциональная активность фибробластов дермы и состояние межклеточного матрикса

Не секрет, что состояние коллагенового матрикса дермы оказывает значительное влияние не только

лено, что фрагментация коллагенового матрикса приводит к нарушению целостности коллагеновой сети дермы, что сопровождается повреждением фокальных контактов между фибробластами и коллагеновым матриксом. Это, в свою очередь, лишает фибробласты возможности находиться в растянутом состоянии — а именно оно является обязательным условием для их функциональной (пролиферативной и биосинтетической) активности (рис. 3).

Таким образом, наблюдающиеся при старении 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 фибробласты настолько значительно, что эти отношения правильнее рассматривать не как взаимодействие, а как взаимозависимость. Понимание молекулярных механизмов и патофизиологии процессов, происходящих в коже при старении, дает возможность целенаправленно использовать

« При низких показателях регенераторного и пролиферативного потенциала кожи проводить любые косметологические процедуры нужно с определенной осторожностью, чтобы не истощить и без того малый пул клеток-предшественниц фибробластов. Таким пациентам, прежде чем применять какие-либо воздействия на кожу, необходимо провести курс терапии SPRS (регенеративной), чтобы восполнить дефицит функционально активных клеток дермы».

на внешний вид кожи (от коллагенового каркаса напрямую зависит и количество/глубина морщин, и проявления птоза), но и на функциональную активность фибробластов. И это показали многие исследования, в частности F. Grinnell (2003). В этой работе было выяв-

существующие в эстетической медицине методы, и, соответственно, эффективно и безопасно корректировать сопровождающие старение структурные дефекты кожи (см. «Растяжение фибробластов как условие их функционирования», с. 20).

Почему повреждается коллагеновый матрикс?

Нарушение целостности коллагенового матрикса происходит не только при хронологическом старении, но и из-за влияния других факторов на кожу. В частности, при воздействии ультрафиолетового облучения (УФО), никотина и, как это не странно, рафинированных сахаров.

Наиболее существенным фактором, усиливающим и ускоряющим старение кожи, является ультрафиолет. Так, однократное УФО кожи в средних дозах (до легкого покраснения) приводит к снижению продукции коллагена на 80%, а возврат его синтеза к норме наблюдается в течение 48–72 часов. При таком же, но неоднократном воздействии УФО продукция коллагена остается на низком уровне в течение длительного времени. При постоянном действии УФ-лучей на кожу эти изменения становятся необратимыми. Изменения структуры, организации и содержания коллагена в дерме, наблюдающиеся при фотостарении, приводят к нарушению

опорного каркаса кожи и служат одной из основных причин образования морщин (помимо, конечно, хронологического старения).

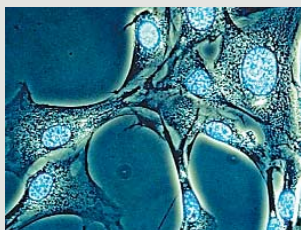
цией гена, ответственного за продукцию металлопротеиназы (ММП1), которая, как известно, участвует в деградации коллагена и, со-

«**Наиболее существенным фактором, усиливающим и ускоряющим старение кожи, является ультрафиолет. Однократное УФО кожи в средних дозах (до легкого покраснения) приводит к снижению продукции коллагена на 80%, а возврат его синтеза к норме наблюдается в течение 48–72 часов. При таком же, но неоднократном воздействии продукция коллагена остается на низком уровне в течение длительного времени. При постоянном действии УФ-лучей на кожу эти изменения становятся необратимыми».**

Другим не менее важным фактором, ускоряющим старение кожи, является курение. Связано это, как оказалось, с нейтрализацией витамина С, который является кофактором биохимических реакций неоколлагеногенеза, а также с актива-

ответственно, нарушении целостности коллагенового матрикса.

Эти существенные для кожи процессы еще более усугубляются необратимой модификацией коллагена за счет образования в нем новых поперечных связей (благодаря не-



Растяжение фибробластов как условие их функционирования

Механизм данного феномена заключается в следующем: содержащиеся на клеточной поверхности фибробластов интегрин (так называемые трансмембранные белки) специфически связаны с белками матрикса, в частности с коллагеном I типа. Интегрины покрывают всю клеточную поверхность, и их адгезия (прикрепление) к коллагеновому матриксу способствует образованию связей как с самим матриксом, так и с белком цитоскелета фибробластов актином. Таким образом, интегрин с наружной поверхности клетки соединяется с

коллагеновым матриксом, а с внутренней — с цитоскелетом, что приводит к образованию комплексов фокальной адгезии (фокальных контактов), осуществляющих тесно связанные между собой регуляторную и механическую функции фибробластов. Образование этих комплексов приводит к индукции каскада внутриклеточных сигнальных путей, которые регулируют метаболизм фибробластов, включая баланс между продукцией коллагенов и их деградацией посредством металлопротеиназ. Именно благодаря фокальным контактам образуется динамическое механическое натяжение между цитоскелетом и коллагеновыми волокнами, поскольку микрофиламенты цитоскелета, расположенные на внут-

ренней поверхности клеточной мембраны и в цитоплазме, физически сцеплены с интегринными и используют это сцепление для натяжения коллагеновой сети. Создается баланс между внешним давлением и внутренним натяжением актин-миозиновых микрофиламентов, благодаря которому и устанавливается динамическое натяжение между фибробластами и коллагеновым матриксом.

Как следствие, возникает адекватное растяжение фибробластов, необходимое для осуществления их функций, включая синтез коллагена и других компонентов межклеточного матрикса дермы. Уменьшение механического натяжения, наблюдаемое с возрастом, в результате нарушения структурной целостности кол-

лагенового 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. В этих условиях клетки теряют способность к растяжению, соответственно, снижается продукция ими коллагена, при этом одновременно продукция металлопротеиназ, напротив, увеличивается, что способствует еще большей дезорганизации коллагена. Создается порочный круг, поддерживающий механизм старения кожи.

ИНЪЕКЦИОННЫЕ МЕТОДЫ: ОТБОР ПАЦИЕНТОВ

рафинированным сахарам!), так называемых AGEs-продуктов (Advanced Glycosylation End-products — продукты неэнзиматических реакций гликозилирования между редуцированными сахарами и аминокгруппами долгоживущих белков — коллагенов), которые существенно нарушают конфигурацию коллагеновых волокон.

Каковы возможности косметологического ремоделирования дермы?

Современные косметологические методы, позволяющие ремоделировать микроструктуру дермы, можно разделить на две группы:

- ◆ к первой относятся технологии, которые оказывают стимулирующее воздействие на резидентные (то есть имеющиеся в дерме) фибробласты, например, лазерные технологии, PRP и пр.;

- ◆ ко второй — методы из области регенеративной медицины, основная цель которых — восполнение уменьшающейся с возрастом клеточной популяции дермы за счет привнесения функционально активных фибробластов (SPRS-терапия).

Так, применение лазерных методов воздействия на кожу — аблятивного (температурного повреждения поверхностных слоев кожи) и неаблятивного (фракционного фототермолиза, то есть микроскопического термального фракционного повреждения дермы) предусматривает следующие процессы. Восстановление кожи после обработки лазером (при обоих типах повреждения) протекает по механизму заживления ран: с ремоделированием коллагена и других компонентов межклеточного матрикса дермы. Показано, что повреждение кожи лазером вызывает индукцию высокоорганизованного каскада молекулярных механизмов. После повреждения кожи в первой фазе наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов, следовательно, и уров-

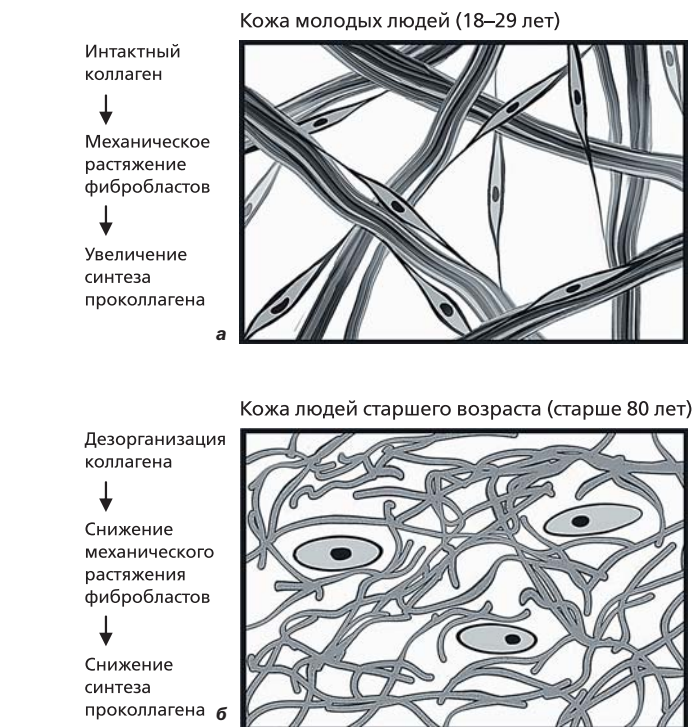


Рис. 3. Взаиморасположение фибробластов и коллагеновых волокон в дерме: а — в коже молодых людей (18–29 лет); б — в коже людей старшего возраста (старше 80 лет). (Varani J., et al. 2006.).

ня разрушающих межклеточный матрикс металлопротеиназ. Это, в свою очередь, ведет к деградации коллагена. В следующей фазе, репаративной, происходит пролиферация фибробластов, продукция ими компонентов межклеточного матрикса (включая коллаген) и, как следствие, восстановление микроструктуры дермы. Ремоделирование дермы и аккумуляция нового коллагена обеспечивают существенное улучшение состояния кожи.

При применении SPRS-терапии — второго типа методов, основанного на замещении утраченных функционально активных фибробластов, исходят из следующей концепции. Прогениторные клетки дермы имеют достаточно высокий пролиферативный потенциал независимо от возраста человека (первичные культуры, полученные даже от очень пожилых людей, 95 лет, содержат до 14% митотически активных фибробластов). С увеличением возраста отмечается снижение пролиферативного потенциала дермаль-

ных фибробластов, находящихся под контролем генетических и эпигенетических факторов. Однако *in vitro* этот контроль нивелируется (или ослабевает) и наблюдается активация митотической активности клеток-предшественниц.

Данному процессу в немалой степени способствуют и условия культивирования фибробластов. При культивировании *in vitro* из небольшого биоптата кожи (диаметром 4 мм) можно получить необходимое для проведения эффективной клеточной терапии количество функционально активных фибробластов. Культуры дермальных фибробластов обладают способностью активно синтезировать компоненты межклеточного матрикса, включая коллаген, эластин, гликозаминогликаны, факторы роста. После трансплантации в кожу биосинтетические потенции культивированных клеток сохраняются, и они активно в течение длительного времени (не менее года) способны продуцировать компоненты межклеточного матрикса дермы.

Клеточный материал вводится по специальной методике: интрадермально, тоннельным способом, с помощью специальных игл (30G, 13 мм), двукратно, которая позволяет равномерно с адекватной плотностью по всей области кожи, требующей коррекции, пополнить пул резидентных фибробластов функционально активными клетками. При этом отмечается стимуляция активности и самих резидентных фибробластов. В результате наблюдается ремоделирование микроструктуры кожи: увеличивается содержание коллагеновых и эластических волокон, гидратация и объем дермы, усиливается эпидермальный морфогенез и гемомикроциркуляция. Внешне это проявляется увеличением толщины, упругости и эластичности кожи, уменьшением количества и глубины морщин. Клинический эффект носит постепенно нарастающий (на протяжении не менее 12 месяцев) и долговременный (от 2 лет и более) характер.

Разнообразие современных методов эстетической коррекции ставит перед каждым врачом, практикующим в этой области медицины, ряд актуальных вопросов, связанных с проведением тех или иных процедур у конкретного пациента: какие процедуры ему показаны? как часто следует их проводить? каковы безопасные параметры их использования именно в его случае (например, аппаратных процедур — лазерных или радиоволновых)? с какого возраста ему можно рекомендовать проведение вмешательств по эстетическим показаниям? и пр.

Сегодня, на наш взгляд, ответить на эти вопросы с большей точностью можно, если учитывать индивидуальные показатели регенераторного и пролиферативного потенциала кожи, полученные при помощи клонального анализа. К примеру, при низких показателях этих параметров проводить любые косметологические процедуры нужно с определенной осторожностью, чтобы не истощить и без того малый пул клеток-предшественниц фибробластов. Таким пациентам, прежде чем применять какие-либо воздействия на кожу, необходимо провести курс SPRS-терапии, чтобы восполнить дефицит функционально активных клеток дермы. В то же время, если у пациента показатели регенераторного/пролиферативного потенциалов высокие или соответствуют норме, можно активно использовать любые косметологические методы. При этом надо учитывать не только содержание в дерме клеток-предшественниц, но и состояние коллагенового матрикса (определяем, исходя из факторов негативного воздействия). Его целостность необходима для полноценного функционирования «мини-фабрик» по производству коллагена, фибробластов и других компонентов дермы.

Учет потенциала кожи конкретного пациента не только позволит избежать многих осложнений, возможных при косметологических вмешательствах, но и может стать гарантом эффективности индивидуальной программы коррекции возрастных изменений. **Ki**



Японская косметика «PREMIUM ESTHE GAGA»

лидер среди профессиональных
космецевтических линий
по салонному уходу



Госрег. сертифицированы. Реплика.



MESOREAL
TRIUM TRADE

129090, Москва, ул. Мещанская, д. 1, корп. 3
+ 7 (495) 644-35-98, + 7 (495) 607-84-88, + 7 (495) 607-72-72

triumtrade@mesoreal.ru

www.mesoreal.ru