СТИМУЛЯЦИЯ КОЛЛАГЕНОГЕНЕЗА НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ СТАРЕНИЯ. РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНОГО КЛАСТЕРА В СТИМУЛЯЦИИ ВЫРАБОТКИ КОЛЛАГЕНА

Исмаилова Наталья Супьяновна

к.м.н., врач-косметолог, член Американской академии эстетической медицины, сертифицированный тренер компании Ipsen, научный руководитель ГК «МЕЛИС», главный врач клиники «МЕЛИС», Москва

Старение – это сложный процесс, происходящий под воздействием как экзогенных, так и эндогенных факторов. В патогенезе старения кожи важная роль принадлежит UV-повреждению, окислительному стрессу и сбоям в функционировании межклеточного экстрацеллюлярного матрикса. Такие процессы, как снижение количества и качества коллагеновых волокон, уменьшение процента содержания гиалуроновой кислоты, хроническое воспаление дермы, формируют порочный круг, оказывающий угнетающее влияние на активность фибробластов. Негативные изменения межклеточного окружения не являются возраст-ассоциированными и могут провоцировать повреждения клеток даже у достаточно молодых людей.

Роль металлопротеиназ в старении кожи

Известно, что с возрастом в коже повышается количество матричных металлопротеиназ (ММП): коллагеназ, желатиназы, стромелизины, ММП-1, ММП-9, ММП-3, ММП-11 и др. [1]. В коже человека ММП-1 является основной протеазой, которая запускает фрагментацию коллагенов I и III типов за счет расщепления коллагеновых фибрилл в одном месте внутри центральной тройной спирали. Далее в процесс вовлекаются другие металлопротеиназы: ММП-3 и ММП-9 [2].

Но дермальные коллагеновые фибриллы стабилизированы поперечными связями, обладающими высокой устойчивостью к протеолитическому расщеплению, что приводит постепенно, в течение десятилетий, к накоплению в коже возникших в результате активности ММП сшитых фрагментов коллагена, нарушающих структуру и функцию кожного экстрацеллюлярного матрикса. Такая фрагментация коллагена является следствием повышенного содержания ММП, которое может происходить под влиянием окислительного стресса и свободных радикалов.

В работах Fischer G. убедительно продемонстрировано, что окислительное повреждение белка значительно (в 2 раза) увеличивается в коже пожилого человека по сравнению с молодой кожей. Окислительный стресс увеличивает экспрессию мРНК ММП-1 в пожилом возрасте в 8 раз по сравнению с молодой дермой, что приводит к повышению и самой ММП-1 (в 2 раза). Кроме того, в возрастной коже был повышен уровень коллагеназ [3].

Клеточная культура кожи молодого человека, подверженная воздействию ММП-1, проявляла все черты возрастной: истончались коллагеновые фибриллы, снижалась их плотность, появлялась фрагментация фибрилл, фибробласты становились округлыми, что не соответствовало картине здоровой, не обработанной ММП-1 кожи,

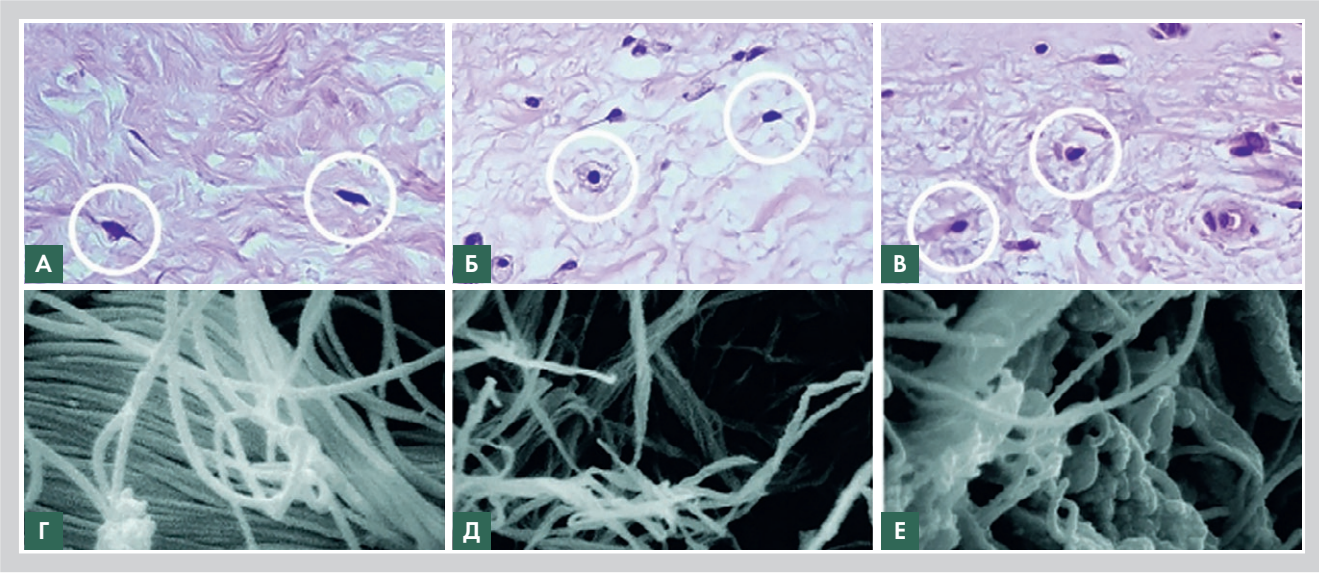

Рис. 1. Обработка клеточной культуры кожи молодого человека ММП-1 вызывает фрагментацию коллагена, аналогичную той, которая наблюдается в коже пожилого человека *in vivo*. На фото А–В показаны пропитанные парафином срезы, окрашенные гематоксилин-эозином: молодая кожа (А); молодая кожа с обработкой ММП-1 (Б); возрастная кожа (В). В обработанной ММР-1 коже (Б) фибробласты (обведены белым) кажутся менее растянутыми и более округлыми по сравнению с фибробластами молодой необработанной ММП-1 кожи (А). Фибробласты пожилого человека также выглядят более сжатыми (В). Сканирующие электронные микрофотографии коллагена клеточной культуры молодой необработанной кожи (Г) без фрагментации фибрилл, а также обработанной ММП-1 (Д), в которой присутствует фрагментация коллагеновых фибрилл, напоминающая состояние фибрилл в коже пожилого человека (Е) [3]

в которой фибробласты растянутые и большего размера (**рис. 1**).

Коллагеновые волокна при старении

Когда здоровые фибробласты молодого человека помещали в среду с поврежденным экстрацеллюлярным матриксом, в котором содержался фрагментированный, структурно дефектный коллаген, они начинали проявлять черты, свойственные возрастной коже, а именно становились меньше по размеру, вырабатывали повышенный уровень окислителей и содержали повышенный уровень окисленных белков. Такие фибробласты имели уменьшенную площадь цитоплазмы и значительно сжимались в размерах, в то время как дермальные фибробласты, культивированные в неповрежденных коллагеновых решетках, имели растянутый уплощенный вид (**рис. 2**) [3].

Эти данные еще раз подтверждают, что деградация и фрагментация коллагеновых волокон будет оказывать негативное влияние на фибробласты, вызывать снижение механического напряжения и ухудшать работоспособность и функциональность фибробластов, усиливать окислительный стресс. Когда снижается механическое напряжение, выработка компонентов внеклеточного матрикса фибробластами падает и одновременно стимулируется выработка ферментов, способствующих деградации этих компонентов.

Фрагментация коллагена, уменьшение его общего количества и снижение степени взаимодействия клеток фибробластов с коллагеновыми волокнами также характеризуют кожу со всеми признаками хроностарения. Содержание проколлагена I типа, маркера продолжающегося синтеза коллагена, снижается на 68% в ста-

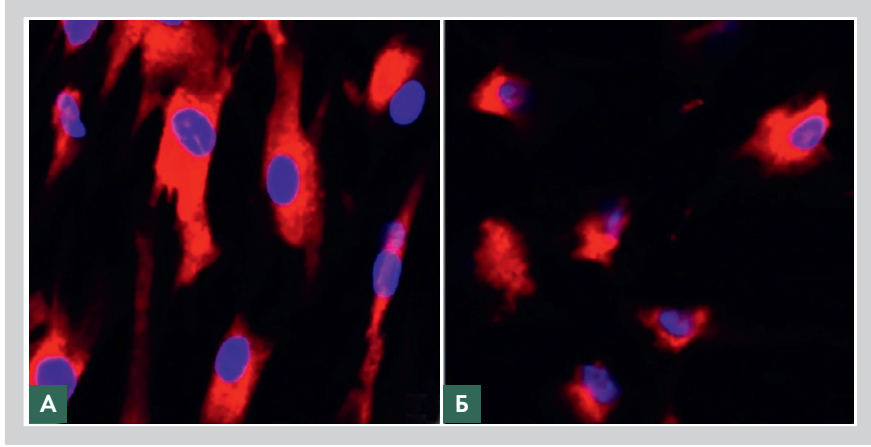

Рис. 2. Дермальные фибробласты кожи молодого человека, культивированные в интактных (А) и фрагментированных металлопротеиназой ММП-1 (Б) коллагеновых решетках. На фото видно уменьшение размера и площади цитоплазмы в фибробластах, культивированных с фрагментированным ММП-1 коллагеном. Связано это с тем, что фрагментированный коллаген снижает механическое напряжение фибробластов в трехмерной решетке. У фибробластов площадь соприкосновения с коллагеновыми фибриллами становится меньше, что снижает их активность [3]

рой коже по сравнению с молодой кожей [4].

Таким образом, кажется вполне логичным, что в качестве превентивной меры для замедления проявления возрастных изменений в дерме необходимо снижать активность ММП, уменьшать оксидативный стресс и восстанавливать структуру дермального матрикса за счет усиления выработки новых, здоровых, правильно организованных коллагеновых волокон.

Аминокислоты и их роль в коллагеностимуляции

В связи с этим возникает большой интерес к механизму действия сочетания аминокислот с гиалуроновой кислотой (ГК) в составе биостимулирующих комплексов. Таким сочетанием обладают препараты SKIN (компания Italfarmacia).

Гиалуроновая кислота будет и восстанавливать гидратацию дермы, и оказывать стимулирующее действие на фибробласты за счет активации специфических рецепторов CD-44. Наибольшую активность, направленную на усиление пролиферации, клеточное деление и миграцию и усиление васкуляризации, будут проявлять короткие фрагменты гиалуроновой кислоты, что подтверждается рядом научных публикаций [5, 6].

Низкомолекулярная ГК обладает стимулирующим действием и является активатором необходимых процессов. И именно низкомолекулярная ГК, состоящая из 20–38 мономеров, содержится в препаратах SKIN.

Аминокислоты являются строительным материалом белков и нужны для физиологического обновления тканей. Но какие из них нам наиболее важны? Известно, что дефицит лейцина и изолейцина снижает синтез коллагена (тропоколлагена I и III типов) даже при благоприятных условиях [7]. Также известно, что коллагеновое волокно содержит в своем составе 33% глицина и около 13% пролина. Неслучайно экзогенный пролин увеличивал экспрессию коллагена I типа в клетках фибробластов в 2 раза, таким образом стимулируя выработку коллагена [8, 9].

Глицин по сравнению с 20 другими свободными аминокислотами наиболее эффективно усиливал синтез коллагена в фибробластах кожи человека, а при повышении его концентрации в плазме в 3–4 раза содержание коллагена в дерме может увеличиться на 200%. Серин выступает как предшественник глицина: 85% глицина образуется именно на его основе [10, 11]. Цистеин ингибирует металлопротеиназы, уровень которых увеличивается в возрастной коже и приводит к фрагментации фибрилл. Не менее важно то, что цистеин и глицин способствуют синтезу глутатиона, увеличивают его концентрацию в тканях и, таким образом, снижают окислительный стресс [12, 13].

Для достижения выраженного результата терапии значение имеет не только состав аминокислотного комплекса, но и суммарное количество аминокислот.

В препарате SKIN B содержится 9 аминокислот общим количеством 75 мг, а в препарате SKIN R – 3 аминокислоты (пролин, лизин и глицин), но их суммарное количество равно 245 мг, что обеспечивает максимально выраженный коллагеностимулирующий эффект данного препарата.

Биостимуляторы SKIN и их коллагеностимулирующее действие

Результат коллагеностимулирующего действия препаратов SKIN доказан в исследовании, проведенном в Италии, в котором принимали участие 20 женщин в возрасте 35–64 лет (в среднем 45 лет), 8 из них достигли менопаузы, а 12 были детородного возраста. Пациентки проходили лечение препаратами на основе гиалуроновой кислоты и аминокислот (SKIN-B) по методике мезотерапии курсом, состоящим из 4 процедур.

Эхографическое исследование показало увеличение толщины дермы в области глабеллы, кантальной области, скул, подбородка, шеи и угла нижней челюсти со средним результатом + 27,3%, что является статистически значимым показателем.

Гистологическая оценка демонстрировала повышенную активность фибробластов с образованием ретикулярного коллагена III типа и увеличением количества сосудов и толщины эпидермиса.

Наблюдались высокая репликативная активность эпидермиса с положительной иммуногистохимической реакцией на эпидермальный фактор роста (EGF) и увеличение содержания коллагеновых волокон без патологического присутствия воспалительных клеток **(рис. 3)** [14].

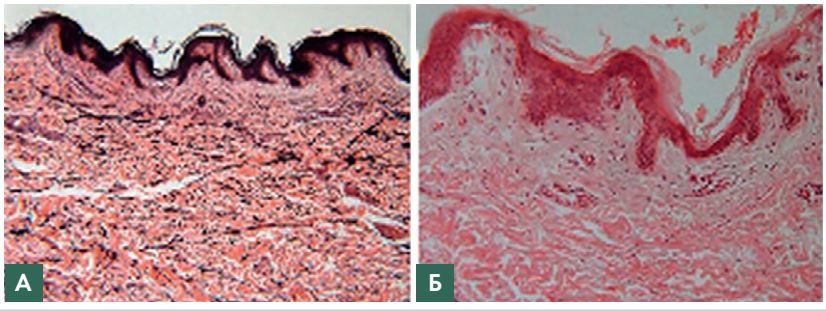

Рис. 3. Результаты гистологического исследования, проведенного на образцах биопсии кожи: до исследования (А), видна незначительная репликативная активность эпидермиса (окрашивание по Ван-Гизону); после курса процедур (Б), отчетливо видна повышенная репликативная активность эпидермиса (окрашивание гематоксилином и эозином) [14]

Коллагеностимуляция препаратами SKIN. Последнее исследование

Еще одно клиническое исследование было проведено в клинике «Мелис». В нем приняли участие 11 женщин в возрасте от 30 до 55 лет (средний возраст 42 года). В исследовании применялась система визуализации кожи с

целью определения профилометрии на оборудовании GFMesstechnik GmbH (GFM) и ультразвуковое сканирование аппаратом DermaScan.

Всем пациентам проводилось по 4 процедуры мезотерапии препаратами SKIN B (5 пациентам) и SKIN R (6 пациентам) с интервалом 1 раз в неделю. Анализ результатов осуществлялся до проведения процедур и через 2 месяца после окончания лечения в 3 зонах лица: в области носогубной складки, латеральной орбитальной области и в центральной зоне лба.

Целью терапии являлось:

• уменьшение дефрагментации коллагеновых фибрилл за счет снижения активности ММП-1;

• повышение синтеза новых коллагеновых фибрилл за счет аминокислот-предшественников и коротких фрагментов гиалуроновой кислоты.

Результаты. Результаты исследования свидетельствуют о высокой эффективности терапии. Через 2 месяца после четвертой процедуры у всех пациентов прослеживалось значительное повышение плотности субэпидермального слоя, увеличение площади ультразвуковой интенсивности и ее более равномерное распределение во всех точках измерения. Полученные результаты ультразвукового сканирования латеральной орбитальной области продемонстрированы на одной из пациенток **(рис. 4)**.

Увеличение этих показателей по сравнению с первоначальными являлось результатом увеличения выработки коллагена, эластина и гликозаминогликанов, физиологического преобразования и улучшения кожи. На фотографиях в латеральной орбитальной области наблюдалось уменьшение количества складок, глубины морщин и улучшение качества кожи, появление более равномерного рельефа с меньшей исчерченностью во всей периорбитальной зоне. Полученные результаты в латеральной орбитальной области продемонстрированы на двух пациентках 40 и 55 лет **(рис. 5, 7)**.

Результаты профилометрии показали уменьшение площади, протяженности и количества зон зеленого и синего цветов в исследуемых областях, что убедительно говорит об уменьшении глубины заломов. Полученные результаты профилометрии латеральной орбитальной области продемонстрированы на двух пациентках 40 и 55 лет **(рис. 6, 8)**.

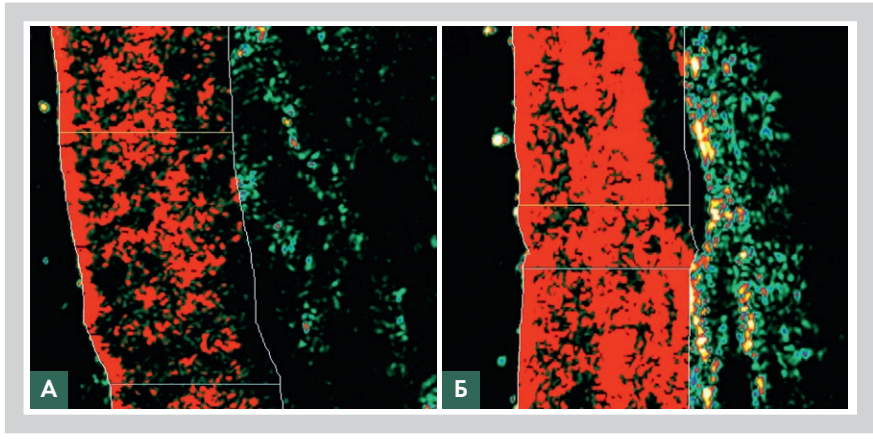

Рис. 4. Пациентка А., 40 лет, осуществлено 4 процедуры мезотерапии препаратом SKIN B. Ультразвуковое сканирование в латеральной орбитальной области. Наблюдается изменение акустической интенсивности гиперэхогенных зон после 4 процедур с биостимулятором SKIN B, повышение плотности субэпидермального слоя, увеличение площади ультразвуковой интенсивности и ее более равномерное распределение (Б) по сравнению с первоначальной картиной (А), что является результатом увеличения выработки коллагена, эластина и гликозаминогликанов в периорбитальной зоне

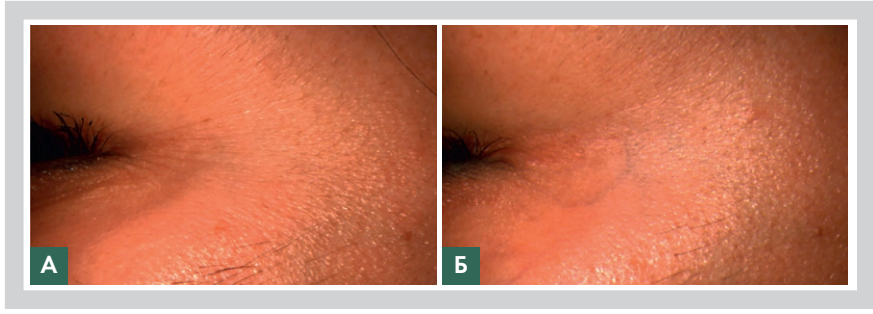

Рис. 5. Пациентка А., 40 лет: фото латеральной области глаз до начала терапии биостимулятором SKIN B, видна неоднородность рельефа кожи, мелкая исчерченность в виде морщин (А); фото латеральной области глаз после проведения 4 процедур мезотерапии биостимулятором SKIN B, виден более ровный рельеф, уменьшение морщин, складок, улучшение внешнего вида периорбитальной области (Б)

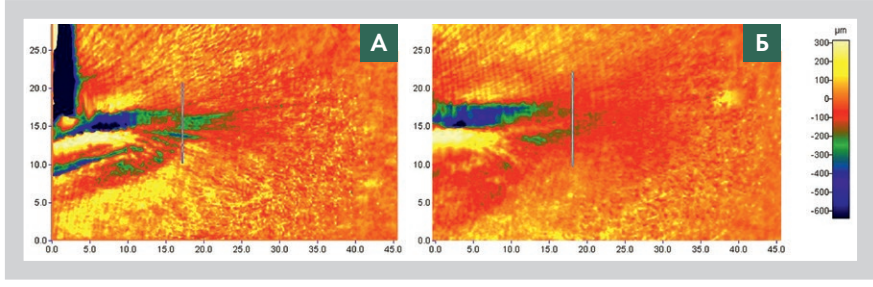

Рис. 6. Результаты профилометрии пациентки А., 40 лет. До исследования (А): интенсивность, количество, протяженность и ширина линий зеленых и синих цветов в области латерального кантуса глаза и латеральных морщин глаза свидетельствуют о глубине заломов; после терапии препаратом SKIN B (Б): наблюдается уменьшение площади и степени интенсивности окраски зеленого цвета, что свидетельствует об уменьшении глубины заломов в зоне латерального кантуса глаза и латеральных морщин периорбитальной зоны

Обсуждение результатов. Анализируя имеющиеся в литературе данные, мы должны сделать выводы о связи по принципу замкнутого круга между

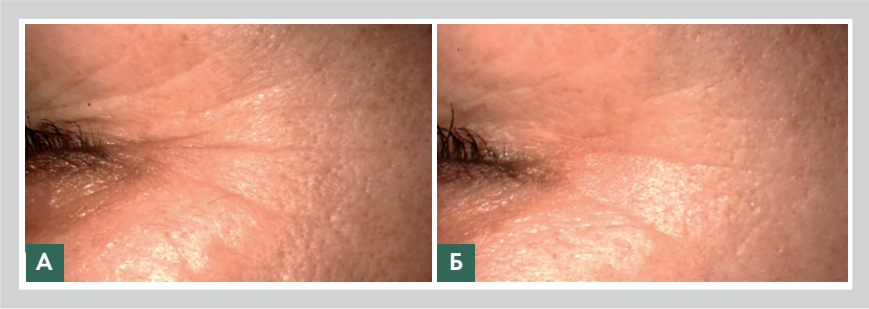

Рис. 7. Пациентка Б., 55 лет, препарат выбора – SKIN R: фото латеральной орбитальной области до начала терапии биостимулятором SKIN R, видна неоднородность рельефа кожи с крупными порами, глубокими и множественными морщинами (А); фото латеральной орбитальной области после 4 процедур с биостимулятором SKIN R, виден более ровный рельеф, уменьшение глубины морщин, уменьшение количества складок, улучшение внешнего вида периорбитальной области (Б)

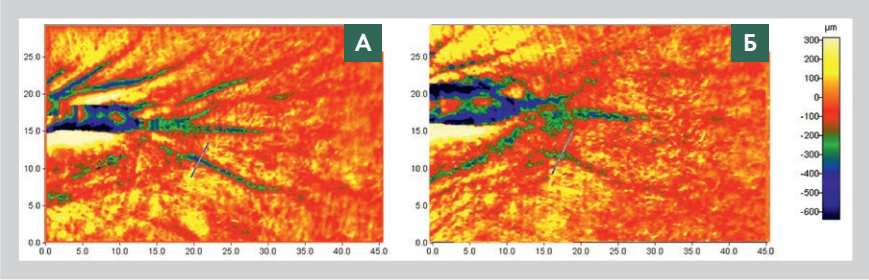

Рис. 8. Результаты профилометрии пациентки Б., 55 лет. До исследования (А): количество, протяженность и ширина линий зеленых и синих цветов в области латерального кантуса глаза и латеральных морщин глаза свидетельствуют о глубине заломов. Синий цвет соответствует большей глубине; после терапии препаратом SKIN R (Б): уменьшение количества, протяженности, ширины зон синего и зеленого цветов свидетельствуют об уменьшении глубины заломов в зоне латерального кантуса глаза и латеральных морщин периорбитальной зоны

состоянием и количеством коллагеновых волокон и функционированием фибробластов: усиление активности ММП за счет окислительного стресса в любом возрасте будет приводить к фрагментации коллагеновых фибрилл, что, в свою очередь, приводит к нарушению функционирования фибробластов. Такие фибробласты будут меньше вырабатывать коллагена и больше потенцировать дополнительные свободные радикалы. То есть прослеживается четкая связь между оксидативным стрессом, который усиливает активность ММП, и дальнейшей фрагментацией коллагеновых фибрилл и как следствие нарушением функционирования фибробластов.

Снижение синтетической функции фибробластов с одновременным ростом активности свободных радикалов является прямым показанием к проведению коллагеностимуляции препаратами SKIN, направленной на оздоровление кожи. Уменьшить фрагментацию коллагеновых фибрилл можно за счет снижения активности ММП-1 посредством препаратов SKIN B, SKIN OX, SKIN Colin, содержащих цистеин. Контролировать и уменьшать окислительный стресс можно за счет введения антиоксидантов и аминокислот (препарат SKIN OX). Усиливать синтез новых коллагеновых фибрилл можно за счет аминокислот-предшественников и коротких фрагментов гиалуроновой кислоты (препараты SKIN R, SKIN B, SKIN OX, SKIN Colin).

Все вышеприведенные соображения подтверждают полученные нами результаты.

И в заключение

Биостимуляторы SKIN на любых этапах жизни поддерживают биохимические процессы и физиологию дермы для создания нормального функционирования клеток кожи, что реально может замедлить ее старение.

Их применение дает хороший клинический результат по уплотнению кожи, устраняет дряблость кожи, уменьшает глубину и протяженность морщин, повышает гидратацию и эластичность кожи. Отличный результат отмечается у пациентов разных возрастных групп, как молодых, так и зрелых, поэтому применение данных препаратов с доказанной эффективностью можно и нужно активно включать в anti-age-программы, направленные на коллагеностимуляцию. ■

ЛИТЕРАТУРА

[1] *Lecuit T., Lenne P.F. Cell surface mechanics and the control of cell shape, tissue patterns and morphogenesis. Nat Rev Mol Cell Biol., 8: 633–644, 2007.*

[2] *Peyton S.R., Ghajar C.M., Khatiwala C.B., Putnam A.J. The emergence of ECM mechanics and cytoskeletal tension as important regulators of cell function. Cell Biochem Biophys., 47: 300–320, 2007.*

[3] *Fisher G.J, Quan T. Collagen Fragmentation Promotes Oxidative Stress and Elevates Matrix Metalloproteinase-1 in Fibroblasts in Aged Human Skin. Am J Pathol, 174 (1): 101–114, 2009.*

[4] *Varani J., Dame M.K., Rittie L., Fligiel S.E., Kang S., Fisher G.J., Voorhees J.J. Decreased collagen production in chronologically aged skin: roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. Am J Pathol., 168: 1861–1868, 2006.*

[5] *Stern R. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. Eur J Cell Biol, 83: 317–325, 2004*

[6] *Buhren B.A., Schrumpf H. Dose- and time-dependent effects of hyaluronidase on structural cells and the extracellular matrix of the skin Eur J Med Res, 25: 60, 2020.*

[7] *Yamane T., Morioka Y. Branched-chain amino acids regulate type I tropocollagen and type III tropocollagen syntheses via modulation of mTOR in the skin. Biosci Biotechnol Biochem, 82(4): 611–615, 2018.*

[8] *Karna E., Miltyk W., Wolczyński S., Palka J. The potential mechanism for glutamine-induced collagen biosynthesis in cultured human skin fibroblasts. Comp Biochem Physiol B., 130: 23–32, 2001.*

[9] *Szoka L., Karna E. Exogenous proline stimulates type l collagen and HIF-1a expression and the process is attenuated by glutamine in human skin fibroblasts Mol Cell Biochem, 435(1): 197–206, 2017.*

[10] *Lugo P.D.P., Lupiáñez J.A., Melén-dez-Hevia E. High glycine concentration increases collagen synthesis by articular chondrocytes in vitro: Acute glycine deficiency could be an important cause of osteoarthritis. Amino Acids, 50: 1357–1365, 2018.*

[11] *Murakami H., Shimbo K., Inoue Y., Takino Y., Kobayashi H. Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthe- sis rates in UV-irradiated mice. Amino Acids, 42(6): 2481–2489, 2012.*

[12] *Sekhar R.V., Patel S.G., Guthikonda A.P., Reid M., Balasubramanyam A., Taffet G.E., Jahoor F. Deficient synthesis of glutathione underlies oxidative stress in aging and can be corrected by dietary cysteine and glycine supplementation1–4. The American Journal of Clinical Nutrition, 94(3): p. 847–853, 2011.*

[13] *Rushworth G.F., Megson I.L., Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. Pharmacology & Therapeutics, 141(2): 150–159, 2014.*

[14] *Scarano A., Ferraro G., Sbarbati A. The role of hyaluronic acid and amino acid against the aging of the human skin: a clinical and histological study. J Cosmet Dermatol, 00:1–9, 2020.*