



**ЛАЗАКОВИЧ Екатерина Михайловна**

Врач-дерматолог, косметолог, герантолог, международный тренер-эксперт брендов Comfort Zone и Skin Regimen, г. Москва

## Sublime skin: борьба со старением кожи на клеточном уровне

**АБСТРАКТ.** За внешними признаками старения кожи в виде морщин, дряблости и неровного тона скрывается сложный комплекс процессов, протекающих на клеточном и тканевом уровнях. В статье приводятся основные механизмы клеточного старения кожи, особенности хроно- и фотостарения, рассмотрены перспективы омоложения кожи при помощи топических средств, нацеленных на наиболее важные звенья клеточного старения — окислительный стресс, хроническое воспаление и ассоциированный со старением секреторный фенотип.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** старение, окислительный стресс, хроническое воспаление, SASP, Sublime skin

Старение кожи человека — сложный процесс, обусловленный внутренними (хронологическими и генетическими) и внешними (в основном экологическими) факторами, которые приводят к постепенному изменению структуры кожи и влияют на ее внешний вид [1].

Внутреннее старение можно рассматривать в качестве запрограммированного процесса. Оно является результатом постоянного повреждения хроматина различными факторами, среди которых наиболее значимым является окислительный стресс, вызываемый активными формами кислорода (АФК) (рис. 1) [2]. Клетки имеют эндогенную систему защиты от окислительного стресса, включающую супероксиддисмутазу (СОД), глутатион и каталазу [3]. Возрастное ослабление антиоксидантной защиты приводит к накоплению АФК, оказывающих разрушительное воздействие на клеточные компоненты, включая белки, липиды и ДНК, что в итоге вызывает клеточную дисфункцию [4].

Одну из ключевых ролей в процессе внешнего старения также играют АФК, образующиеся под действием внешних факторов, таких как ультрафиолетовое (УФ) излучение и загрязнение воздуха.

В ответ на воздействие стрессовых факторов, в том числе приводящих к повреждению ДНК, клетки переходят в состояние необратимой остановки клеточного цикла, называемой клеточным старением. Последние исследования показали, что клеточное старение играет важную роль в процессе старения кожи [5, 6].

Стареющие (сенесцентные) клетки характеризуются наличием нескольких биомаркеров:

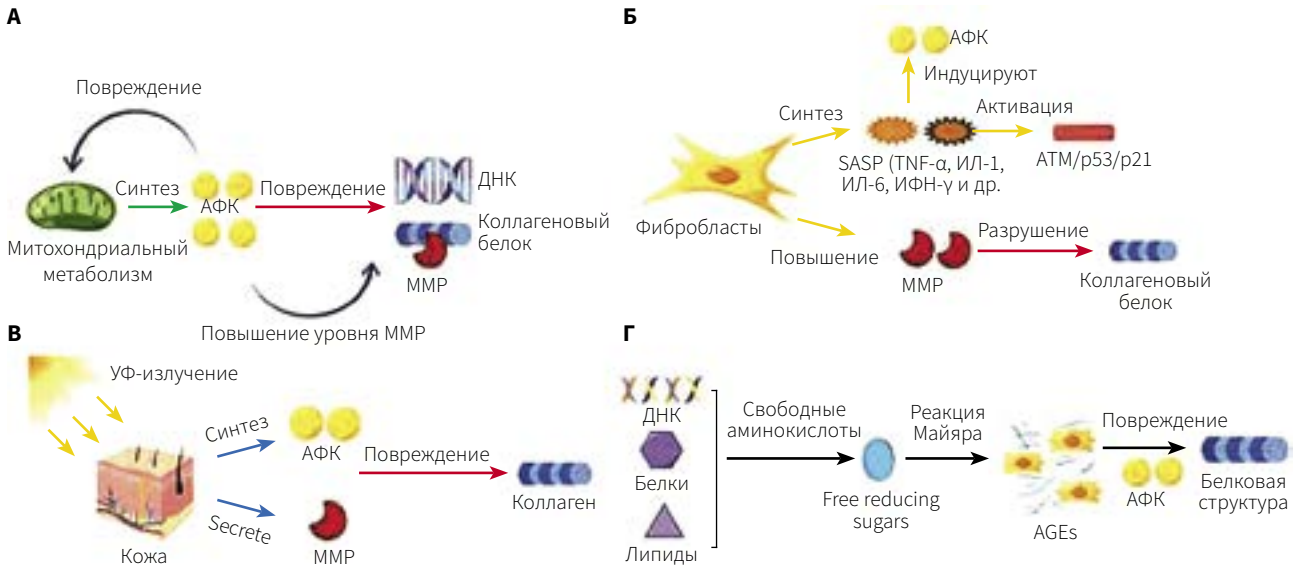
- 1) повышением активности белков остановки клеточного цикла p21WAF1 и p16INK4A;
- 2) повышением уровня лизосомального фермента — ассоциированной со старением галактозидазы-β (senescence-associated β galactosidase; SA-β-gal);
- 3) снижением экспрессии ядерного белка 1 высокомолекулярной группы (HMGB1) и ламина В1 — структурного компонента ядерной пластины [7].

Стареющие клетки также выделяют гуморальные факторы, известные как **ассоциированный со старением секреторный фенотип (senescence associated secretory phenotype; SASP)**.

SASP включает различные провоспалительные цитокины, хемокины, матриксные протеиназы и микроРНК (рис. 2) [8, 9]. С возрастом накопление сенесцентных кератиноцитов, меланоцитов и, что особенно важно, фибробластов может приводить к различным возрастным заболеваниям и нарушению гомеостаза кожи [6].

В результате появления стареющих клеток и избыточной продукции АФК происходит деградация внеклеточного матрикса (ВКМ). Избыток АФК активирует сигнальные пути митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) и белка-активатора 1 (activator protein 1; AP-1), что приводит к усилению экспрессии матриксных металлопротеиназ (matrix metalloproteinase; MMP) и, как следствие, к разрушению коллагена.

Повышение уровня АФК также снижает выработку коллагена через сигнальный путь трансформирующего фактора роста β (TGF-β) и белков-моду-

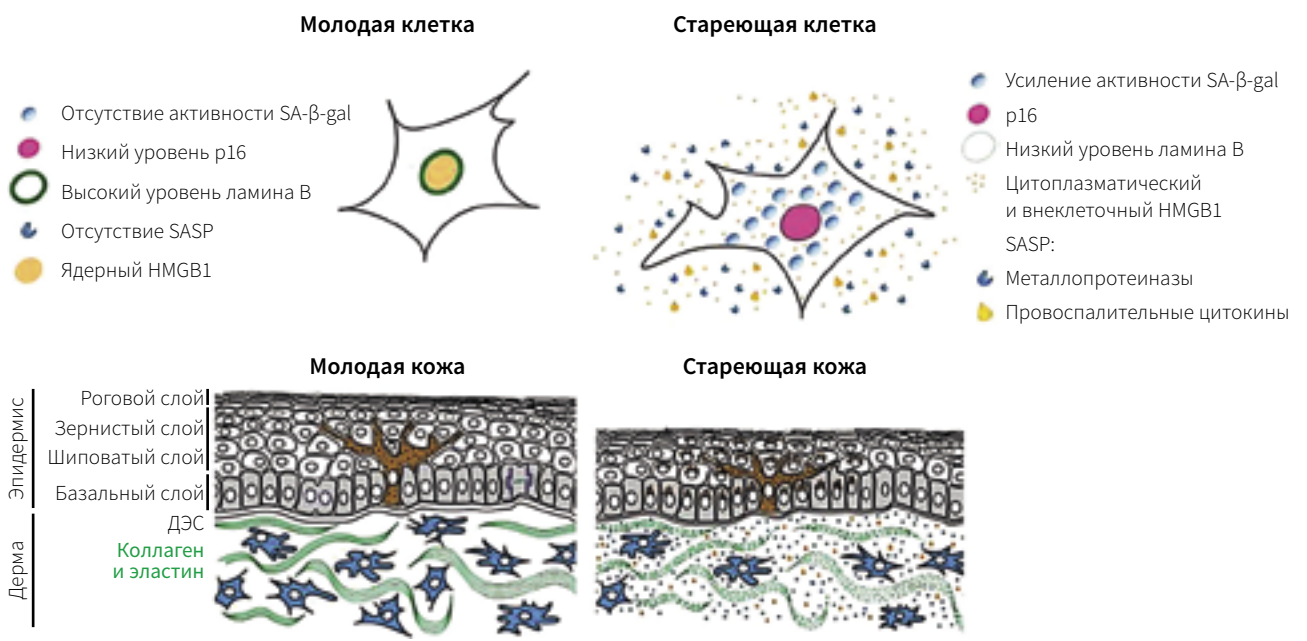


**РИС. 1.** Предполагаемые механизмы старения кожи: А — влияние окислительного стресса; избыток активных форм кислорода (АФК) повреждает митохондрии и ДНК, что приводит к снижению уровня коллагена и повышению уровня MMP; Б — влияние хронического воспаления; стареющие фибробласты и кератиноциты выделяют активные вещества с провоспалительными свойствами (SASP); В — фотостарение; УФ-излучение индуцирует образование в коже АФК и синтез MMP, разрушающих внеклеточный матрикс; Г — неферментативное гликозилирование; реакция между свободными восстанавливающими сахарами и свободными аминокислотами белков, ДНК и липидами приводит к образованию конечных продуктов гликирования и АФК, способных вызвать изменение клеточного гомеостаза и структуры белков. ATM — мутантный при атаксии-телеангиэктазии белок; AGE (advanced glycation end product) — конечный продукт гликирования [2]

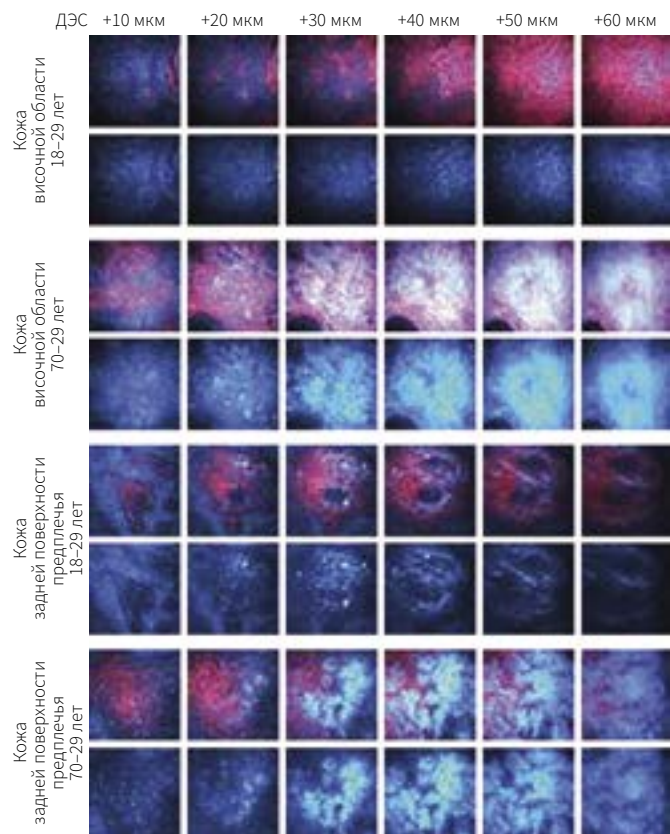
ляторов транскрипции Smad (small mothers against decapentaplegic) [10].

Кроме того, разрушению ВКМ способствуют хроническое воспаление и распад коллагена в результате возрастного снижения уровня тканевых ин-

гибиторов металлопротеиназ (tissue inhibitors of metalloproteinases; TIMPs) и присутствия стареющих клеток. В частности, стареющие фибробласты вносят свой вклад в формирование возрастных изменений кожи за счет взаимодействия с другими



**РИС. 2.** Структурные особенности молодой и стареющей кожи. HMGB1 — ядерный белок 1 высококомобильной группы [9]



**РИС. 3.** Возрастные изменения эластиновых волокон кожи тыла кисти и лица (синий — клетки и эластиновые волокна, красный — коллагеновые волокна) на разной глубине от дермо-эпидермального соединения (ДЭС). В более молодом возрасте эластиновые волокна тонкие и прямые, в пожилом возрасте наблюдается накопление утолщенных и волнистых эластиновых волокон (солнечный эластоз) [1]

клетками, включая кератиноциты и меланоциты, посредством паракринной сигнализации. Они экспрессируют SASP, включающий MMP-2, MMP-9 и провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин (ИЛ) 6 и ИЛ-8 [9]. Миграция нейтрофилов после воспаления или УФ-облучения еще больше ускоряет фрагментацию коллагена и эластина за счет выработки нейтрофилами протеолитических ферментов [11].

Для стареющих фибробластов свойственна менее интенсивная секреция инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1), необходимого для формирования ниш мезенхимальных стволовых клеток и модуляции пролиферации и дифференцировки эпидермальных клеток [12]. Кроме того, IGF-1-сигнализация необходима для соответствующих защитных реакций кератиноцитов на вызванное УФ-излучением повреждение ДНК за счет запуска естественного клеточного старения или восстановления поврежденных ДНК [13]. В возрастной коже снижается синтез ИФР-1. В результате развивается атрофия эпидермиса и пролиферации кератиноцитов с невозстанов-

ленной ДНК, что приводит к развитию возрастного немеланомного рака кожи [6].

Таким образом, хроно- и фотостарение имеют схожие молекулярные механизмы развития, включая генерацию АФК, повреждение ДНК и структурную деградацию компонентов ВКМ. Что касается клинических проявлений, для каждого типа старения характерны свои отличительные черты.

## ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНО- И ФОТОСТАРЕНИЯ НА ТКАНЕВОМ УРОВНЕ

Хроностарение приводит к истончению эпидермиса и дермы, сухости, бледности, снижению эластичности кожи, появлению мелких морщин. Функциональная активность потовых и сальных желез также идет на спад. В результате ослабления экспрессии гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptor gamma; PPAR-γ) уменьшается секреция себума, что приводит к сухости кожи. Фотостарение проявляется в виде глубоких морщин, выраженной потери эластичности, телеангиэктазий и нарушений пигментации [14].

На тканевом уровне старение кожи приводит к уменьшению толщины эпидермиса, хотя количество клеточных слоев остается неизменным, уплотнению дермоэпидермального соединения, очаговой гиперпигментации, атрофии и дегенеративным изменениям дермы [2].

Компоненты внеклеточного матрикса — коллагеновые и эластиновые волокна, которые обеспечивают прочность на растяжение и эластичность кожи соответственно, в процессе старения претерпевают существенные изменения.

Наблюдается общее снижение количества коллагена за счет уменьшения активности синтеза, а также усиления его фрагментации, что, предположительно, связано с повышенной экспрессией MMP. Согласно исследованиям Quan T. и соавт., важной детерминантой состояния дермальной микросреды служит белок CCN1, также известный как богатый цистеином белок 61 [15]. Для стареющей кожи характерно выраженное повышение уровня CCN1 в дермальных фибробластах кожи. Авторы продемонстрировали, что повышенная экспрессия CCN1 ускоряет старение дермы за счет дисрегуляции производства и гомеостаза коллагена. Эти изменения приводят к нарушению структуры и функций кожи и создают микросреду, способствующую развитию возрастных патологических состояний и заболеваний кожи, включая замедленное заживление ран и рак кожи [16].

Возрастные структурные изменения наблюдаются также и в эластиновых волокнах дермы (рис. 3).

Сеть эластиновых волокон состоит из эластина и фибриллина. С течением времени эластин подвергается повреждению и деградации. Это происходит из-за связанной со старением повышенной активности протеиназы, что приводит к деградации эластина и одновременно к повышенной склонности к кальцинозу: эластиновые волокна укорачиваются и фрагментируются, происходит накопление поврежденных эластина за счет модификации остатков аспарагиновой кислоты, накопления кальция и липидов, а также перекрестных сшивок с участием глюкозы.

В верхнем сосочковом слое дермы расположены окситалановые волокна, представляющие собой микрофибриллярные пучки с большим содержанием фибриллина. Они препятствуют отрыву эпидермиса от дермо-эпидермального соединения (ДЭС). Окситалановые волокна образуют с ДЭС органическую связь в виде подсвечника [17]. В процессе фотостарения окситалановые волокна подвергаются дегенерации, а эластиновые волокна верхнего слоя дермы разрушаются под действием эластолитических ферментов, включая MMP и эластазы нейтрофилов [18].

Существенные изменения происходят и в структуре базальной мембраны. Согласно исследованию Tsutsui K. и соавт., базальная мембрана не только обеспечивает физическую поддержку кератиноцитов, но и играет важную роль в регуляции коммуникации между эпидермальными и дермальными клетками [19]. С возрастом происходит снижение уровня белковых компонентов зоны базальной мембраны, включая коллаген 7 и 17, нидоген, интегрин и ламинин-332, а дермо-эпидермальное соединение уплощается [20]. Предположительно, изменения базальной мембраны стимулируют синтез стареющими фибробластами растворимых веществ — регуляторов меланогенеза, что приводит к повышению активности меланоцитов и образованию очаговой гиперпигментации [21].

Результаты исследования Iriyama S. и соавт. свидетельствуют о том, что ингибирование деградации базальной мембраны с помощью ингибиторов MMP и гепариназы способствует отложению ламинина-511 в ДЭС. В ответ на это происходит высвобождение тромбоцитарного фактора роста, состоящего из 2 субъединиц В (PDGF-BB). Под воздействием PDGF-BB в фибробластах повышается экспрессия генов COL5A1 и COL1A1, что свидетельствует об увеличении уровня коллагена в папиллярной дерме [22].

Поскольку клинические признаки старения кожи в виде дряблости, морщин и очаговой гиперпигментации являются лишь следствием процессов, происходящих на клеточном уровне, патогенетически обоснованным является использование средств, способствующих сохранению молодости клеток кожи.

С возрастом накопление сенесцентных кератиноцитов, меланоцитов и, что особенно важно, фибробластов может приводить к различным возрастным заболеваниям и нарушению гомеостаза кожи.

## SUBLIME SKIN — МНОГОУРОВНЕВЫЙ ПОДХОД К ОМОЛОЖЕНИЮ КОЖИ

Более 60 экспертов — химики, биологи, фармацевты, дерматологи и косметологи — научной лаборатории Comfort Zone (Франция) разработали линию уходовых средств Sublime skin, нацеленную на нормализацию нарушенной вследствие возрастных изменений функции клеток кожи и коррекцию проявлений старения. Основными компонентами косметических средств служат ацетилгексапептид-8 и экстракт *Achillea millefolium*.

### Ацетилгексапептид-8

Вещество представляет собой синтетический пептид, сконструированный из N-концевой части белка SNAP-25. Ацетилгексапептид-8 обладает двойным эффектом:

- 1) уменьшает видимость мимических морщин;
- 2) способствует восстановлению возрастных дегенеративных изменений кожи.

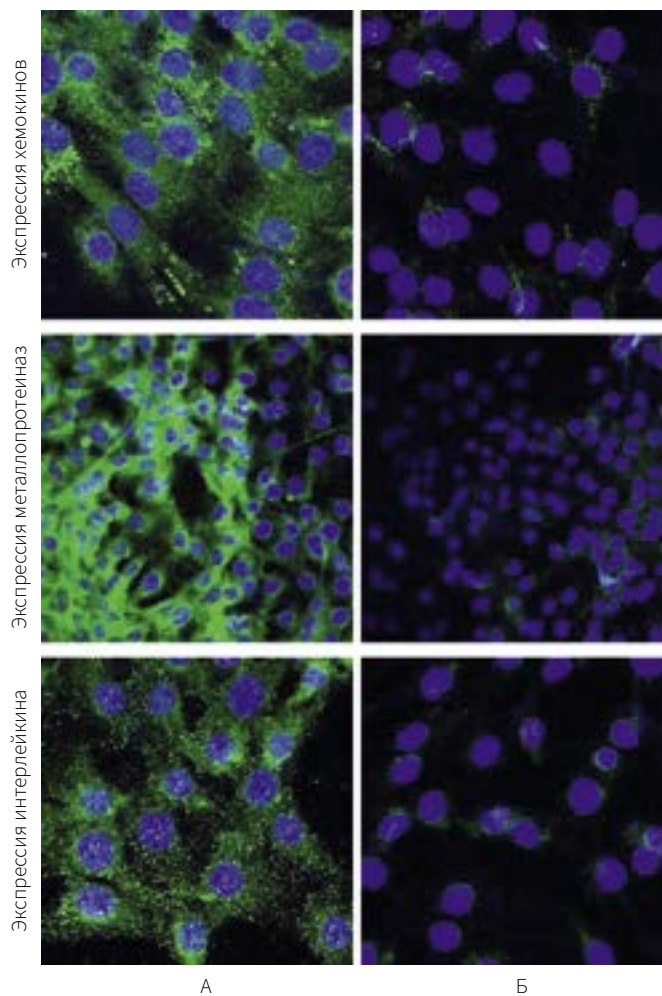
Согласно исследованию на культуре фибробластов, ацетилгексапептид-8 эффективно уменьшает повреждения, вызванные провоспалительными молекулами SASP.

Были выбраны три характерные составляющие SASP — интерлейкины, хемокины и металлопротеиназы. Для воссоздания возрастных изменений фибробласты были обработаны окислителем. Результаты оценивались при помощи реакции иммунофлуоресценции. Интенсивность зеленого цвета находится в прямой зависимости от уровня SASP.

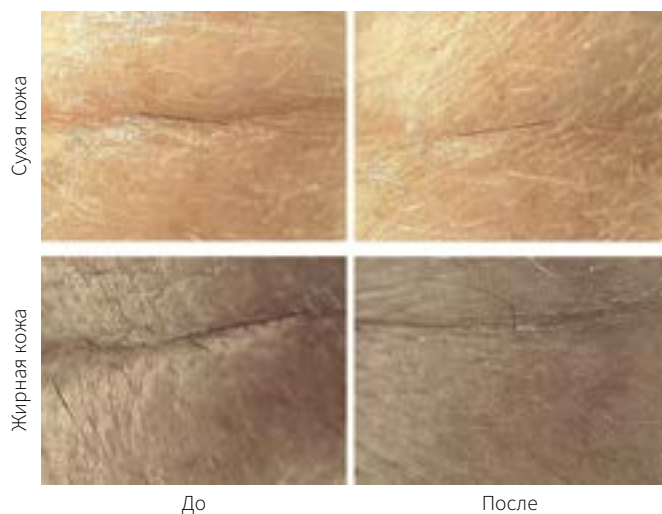
Исследование свидетельствовало о статистически значимом снижении высвобождения SASP, которое во всех трех случаях сократилось по крайней мере вдвое, при снижении уровня интерлейкинов на 62,6% (рис. 4).

Ацетилгексапептид-8 также известен своей способностью уменьшать глубину морщин за счет снижения сократительной способности мимических мышц.





**РИС. 4.** Изменение экспрессии основных представителей SASP: А — образец не обработан сывороткой с ацетилгексапептидом-8 (Интенсивная лифтинг-сыворотка Sublime skin/Comfort zone, Италия); Б — после обработки сывороткой



**РИС. 5.** Эффект применения топического средства на основе ацетилгексапептида-8: левые снимки — исходное состояние, правые снимки — после 30 дней топической терапии [27]

Этот пептид конкурентно ингибирует высвобождение нейромедиаторов в нервно-мышечном синапсе за счет встраивания в комплекс SNARE, ответственный за процесс проведения нервного импульса. Мышца не получает сигнала о сокращении и остается расслабленной. Таким образом, подавляя сокращение мимических мышц, ацетилгексапептид-8 уменьшает гиперкинетические мимические морщины [23, 24].

Эффективность устранения морщин при помощи топических форм ацетилгексапептида-8 была оценена в ходе нескольких клинических исследований. В ходе исследования Blanes-Mira С. и соавт. двукратное ежедневное применение ацетилгексапептида-8 в концентрации 10% в течение 30 дней привело к уменьшению глубины морщин на 30% [25]. В другом исследовании топическое применение крема и геля, содержащих ацетилгексапептид-8, позволило достичь уменьшения морщин на 41,83–78,25% (**рис. 5**) [26]. Wang Y. и соавт. достигли уменьшения выраженности периорбитальных морщин в выборке из 60 пациентов в среднем на 48,9% (**рис. 6**) [23].

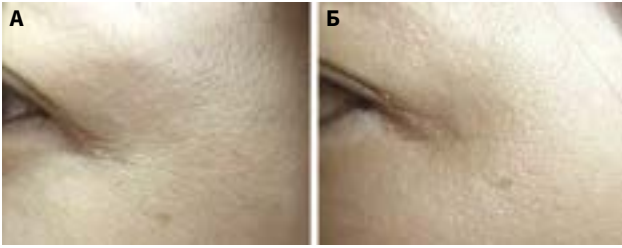
Также было изучено действие ацетилгексапептида-8 в рамках терапии блефароспазма — фокальной дистонии, затрагивающей преимущественно круговую мышцу глаза [27]. Несмотря на то, что исследование с применением ацетилгексапептида-8 не дало статистически значимых результатов, профиль безопасности и тенденция к улучшению состояния позволяют предположить, что его ботулоподобные свойства найдут более широкое применение в медицине.

### Экстракт *Achillea millefolium*



Растение *Achillea millefolium*, широко известное как тысячелистник, получило свое название в честь Ахиллеса, мифологического героя Троянской войны, который применял его в качестве средства, излечивающего раны. Свой видовой эпитет лат. *millefolium* («тысячелистник», от *mille* — «тысяча» и *folium* — «лист») растение получило по многочисленным сегментам листа.

Лечебные свойства тысячелистника известны с древних времен. В народной и традиционной ме-

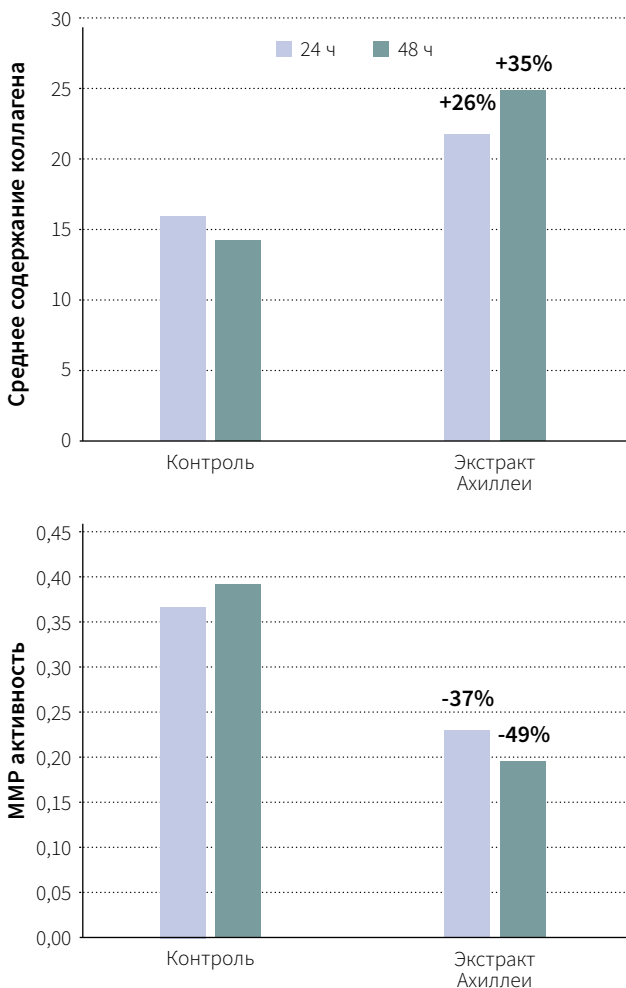


**РИС. 6.** Изменение выраженности периорбитальных морщин у пациентки (женщина, 40 лет) после 4 нед топического нанесения ацетилгексапептида-8: А — до; Б — после [24]

дицине он применяется в качестве ранозаживляющей травы уже более сотни лет.

Полезные свойства экстрактов *Achillea* обусловлены наличием в растениях этого рода множества вторичных метаболитов, включающих флавоноиды, фенольные кислоты, терпены, гуаянолиды, фитостерин, жирные и органические кислоты [28].

Омолаживающее и тонизирующее действие экстракта ахиллеи было изучено *in vitro* путем измерения

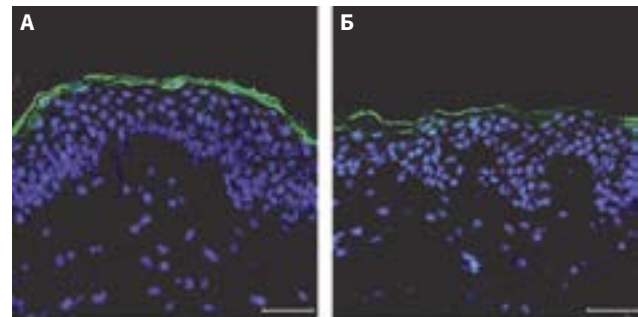


**РИС. 7.** Влияние экстракта *Achillea millefolium* на структурные параметры кожи

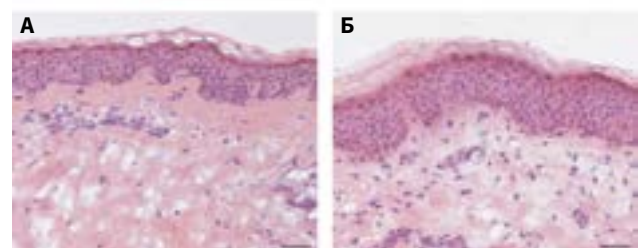
двух основных параметров структуры кожи — синтеза коллагена и активности ферментов, которые его разрушают (ММР-1). Согласно результатам, активный ингредиент способен модулировать эти два механизма в условиях 24-часового и 48-часового стресса.

Все клетки, как обработанные *A. millefolium*, так и необработанные, подвергали воздействию УФ-излучения для воссоздания стрессового состояния, а затем измеряли уровни коллагена и ММР-1. В клетках, обработанных экстрактом *A. millefolium*, наблюдались усиление синтеза коллагена и снижение активности ММР-1 (**рис. 7**).

Pain S. и соавт. оценили омолаживающие свойства экстракта *A. millefolium* [29]. На первом этапе исследования авторы оценили *ex vivo* влияние экстракта *A. millefolium* на экспрессию различных маркеров эпидермальной дифференцировки в биоптатах кожи человека с помощью количественного анализа изображений. Образцы ткани были взяты из кожи живота 60-летней женщины. Полученные результаты свидетельствуют об улучшении профиля экспрессии цитокератина 10, трансглутаминазы-1 и филагрина, а также об увеличении толщины эпидермиса (**рис. 8, 9**). Эти предварительные данные позволяют предположить, что на толщину эпидермиса может влиять не только пролиферация кератиноцитов, но и состояние их дифференцировки.



**РИС. 8.** Иммуногистохимическое окрашивание филагрина в биоптатах полнослойной нормальной кожи человека от донора 60 лет: А — интактный контроль; Б — обработанный экстрактом *Achillea millefolium* образец ткани [30]



**РИС. 9.** Результаты гистологического исследования биоптатов кожи человека от донора 60 лет: А — интактный контроль; Б — обработанный экстрактом *Achillea millefolium* образец ткани [30]