

# ИНДУКЦИЯ СИНТЕЗА КОЛЛАГЕНА С ПОМОЩЬЮ МЕЗОРОМЕРА — РЕГЕНЕРАЦИЯ ИЛИ РУБЦЕВАНИЕ?

## **М.С. Ауст (M.C. Aust)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **К. Реймерс (K. Reimers)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **Х.М. Каплан (H.M. Kaplan)**

отделение биомедицинской инженерии Университета  
Южной Калифорнии (США)

## **Ф. Шталь (F. Stahl)**

отделение технической химии Ганноверского  
университета (Германия)

## **Ц. Репеннинг (C. Repenning)**

отделение технической химии Ганноверского  
университета (Германия)

## **Т. Шепер (T. Scheper)**

отделение технической химии Ганноверского  
университета (Германия)

## **С. Джен (S. Jahn)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **Н. Швайгер (N. Schwaiger)**

клиника пластической хирургии Ганновера (Германия)

## **Р. Ипактчи (R. Ipaktchi)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **Дж. Редекер (J. Redeker)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **М.А. Алтинтас (M.A. Altintas)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **П.М. Вогт (P.M. Vogt)**

отделение пластической и восстановительной хирургии  
Высшей медицинской школы Ганновера (Германия)

## **Комментарий редакции**

Абляция, глубокие химические пилинги, подразумевающие эпидермолиз, — все эти процедуры, обеспечивающие посттравматическую ремодуляцию дермы, позволяют разгладить рельеф кожи, избавиться от морщин, обеспечивают выраженный лифтинговый эффект. Но какой ценой? В результате агрессивного воздействия повреждается или уничтожается эпидермис, базальная мембрана. Процессы ранозаживления, как правило, сопровождаются развитием фиброза на уровне папиллярного слоя дермы.

Сегодня все большее распространение получают методы фракционного воздействия на кожу путем нанесения микротравм. В этом случае регенерация осуществляется с привлечением клеточного пула неповрежденной кожи, т.е. протекает в более физиологичном режиме. В повседневную клиническую практику вошел фракционный фототермолиз, подразумевающий лазерное или IPL-воздействие, а также микроигельчатая терапия с использованием мезороллера. Внедрение новых методов — это всегда новые надежды. Воодушевленные достигнутыми успехами, мы часто придумываем им умозрительное обоснование. Как отделить желаемое от действительного? Иллюзию уплотнения и выравнивания кожи вследствие посттравматического отека от клинического эффекта, обусловленного обновлением коллагеновых волокон дермы?

В ходе недавних клинических и лабораторных исследований было показано, что индукция синтеза коллагена методом множественных микрокальваний (микроигельчатая терапия) является безопасной процедурой коррекции возрастных изменений кожи и рубцов. С чем связано формирование благоприятной клинической картины? Какие изменения происходят в коже после процедуры, насколько они выражены?

Экспериментальные исследования, проведенные интернациональной группой специалистов, дают ответы на многие вопросы.

Статья готовится к публикации в *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010. © 2010 Elsevier Inc. Печатается с разрешения издателя.

В течение последнего десятилетия отмечается существенный прогресс в понимании клеточных и молекулярных механизмов хронологического и фотоиндуцированного старения кожи [1–3]. На основании данных последних исследований можно сделать вывод о том, что оба типа старения в своей основе имеют схожие молекулярные механизмы. Это представление открывает новые возможности для разработки универсальных методов омоложения кожи.

Идеальный метод должен приводить к усилению экспрессии генов и белков, отвечающих за регенерацию, причем без существенного нарушения целостности кожи. Физиологическая регенерация в сравнении с рубцеванием обеспечивает гораздо лучший эстетический результат.

Не так давно авторами данной статьи было доказано, что индукция синтеза коллагена в коже методом множественного прокалывания иглами (микроигльчатая терапия) является безопасным способом устранения морщин и рубцов без риска формирования дисхромии [4, 5]. Однако клинические исследования не позволяют провести детальную морфометрическую оценку изменений в эпидермисе, оценить в качественном и количественном выражении преобразования дермы.

## Материалы и методы исследования

Метод индукции синтеза коллагена достаточно хорошо описан D.S. Orentriech, N. Orentriech, D. Fernandes, A. Camirand и J. Doucet [5–8]. Сущность метода сводится к прокалыванию кожи путем прокатывания по ней специально разработанного устройства — мезороллера, снабженного множеством игл определенной длины. Следствием микротравм становится воспалительный процесс, сопровождающийся высвобождением факторов роста и ремодуляцией соединительной ткани (рис. 1 А и В).

Задача данного экспериментального исследования — качественная и количественная оценка изменений в коже после микроигльчатой терапии. Для этой цели использовались методы гистохимии, иммунофлуоресцентного анализа, экспрессия генов оценивалась методом матричного анализа цитокинов (фактора роста эндотелия сосудов VEGF, фактора роста фибробластов FGF-7 и эпидермального фактора роста EGF), а также компонентов внеклеточного матрикса, таких как коллаген типа I и III.

60 самцов крыс линии Sprague-Dawley весом 350–375 г в возрасте 5 месяцев были рандомизированы в 4 группы:

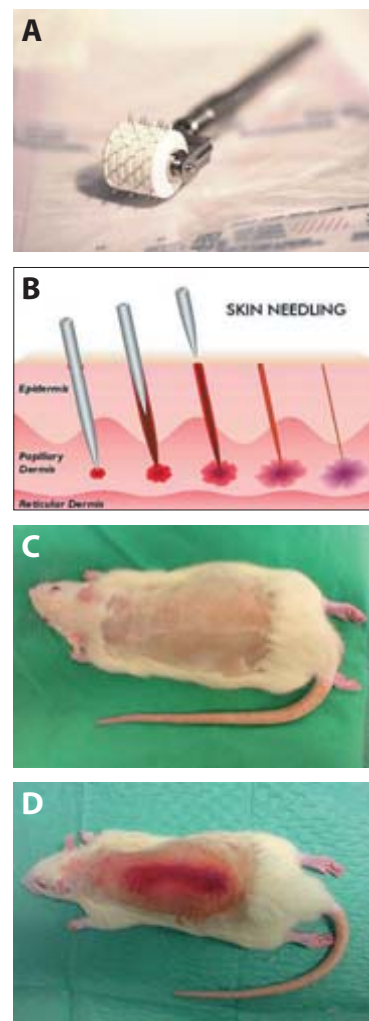
- группа А (n=6, контроль);
- группа В (n=18, топические средства);
- группа С (n=18, микроигльчатая терапия — МИТ);
- группа D (n=18, МИТ плюс топические средства).

У животных всех групп шерсть на спине сбрасывалась. Группа А использовалась в качестве контроля при оценке всех показателей.

После общей анестезии и анальгезии животные из групп С и D были подвергнуты процедуре микроигльчатой терапии (30% от всей поверхности тела), которая проводилась на бритой коже спины с использованием медицинского инструмента — мезороллера (Environ Medical Roll-CITTM, Vivida SA, ЮАР). Длина игл составляла 3 мм, и они проникали на уровень дермы. После обработки кожи животных мезороллером в течение 10 минут на ней образовывались тысячи очагов микротравм с последующим кровоизлиянием (рис. 1 С и D).

Животным в группах В и D на кожу спины наносили крем с витамином А в высокой концентрации (ретинол пальмитат 1% в составе Environ Original, Environ Skin Care, ЮАР) и крем с витамином С (аскорбил изотетрапальмитат 10% в составе Environ C-Boost, Environ Skin Care, ЮАР). В группе D кремы наносились непосредственно после МИТ и далее один раз в день. В группе В — в то же время. Кремы с витаминами использовались с целью максимальной интенсификации синтеза коллагена, в последующем — для поддержания равновесия между синтезом и деградацией коллагена.

Животные выводились из эксперимента по прошествии 14, 28 и 56 дней.



**Рис. 1.**  
 А — мезороллер Roll-Cit.  
 В — схематическое изображение процедуры микроигльчатой терапии.  
 С — крыса с побритой спиной.  
 D — через час после процедуры МИТ. Отмечается возникновение внутрикожных кровоизлияний и кровотечение

## Научные исследования

### Гистологические исследования

Из биопсийных образцов готовили срезы толщиной 5 мкм, препараты окрашивали гематоксилином-эозином или трихромом по Массону, а также с помощью ШИК-реакции. Количественные измерения проводились с использованием программного обеспечения CellD на 15 репрезентативных образцах из одного и того же участка кожи.

### Измерение толщины эпидермиса

Измерение толщины эпидермиса осуществляли с использованием программы CellD и микроскопа Olympus (Германия) на трех случайным образом отобранных микропрепаратах, полученных из одного и того же участка кожи спины у трех разных животных.

### Иммунофлуоресценция

С помощью криостата были получены срезы толщиной 20 мкм. Использовали первичные антитела к крысиному коллагену I и III типа, фибронектину, гликозаминогликанам (ГАГ) и фактору роста эндотелия сосудов (VEGF) в разведении 1:100, а также конъюгированные козлиные антимышьи или антикроличьи антитела. Образцы кожи помещали в среду для иммунофлуоресценции Vectashield (Vector Laboratories, США) с добавлением 4,6-диамидино-2-фенилиндола. Образцы анализировали и фотографировали с использованием микроскопа Zeiss (Германия).

### Анализ экспрессии генов с помощью микрочипов

РНК была изолирована с помощью набора Aurum total fatty and fibrous tissue (Германия). В процессе обратной транскрипции РНК конвертировалась в ДНК, меченную флуоресцеином и биотином, анализ которой проводили с помощью конъюгированного тирамида (Cy3 и Cy5). Для первичного анализа изображений микрочипов использовали программное обеспечение Gene Pix Pro 6.

Средние значения для каждого гена определяли из 9 показателей, причем резко отличающиеся значения были исключены в соответствии с тестом по Налимову. При сопоставлении результатов использовали независимый критерий Стьюдента. Разница считалась значимой при  $p \leq 0,05$ . Сводные данные представляли в виде средних значений и среднеквадратичного отклонения (СО).

### Этические соображения

С точки зрения гарантий гуманного обращения с животными протокол исследования был рассмотрен и утвержден правительством Нижней Саксонии (Германия).

## Результаты

### Изменения в эпидермисе

В сравнении с контрольной группой А в группе В на фоне местного применения витаминов А и С было отмечено увеличение толщины эпидермиса на 22% спустя 8 недель (**табл. 1**). Показатели толщины эпидермиса в группах, подвергнутых МИТ (С и D), были существенно выше, чем в контрольной группе А и группе В. Причем в течение всего периода наблюдений после процедуры эти изменения прогрессировали. Следует отметить высокую статистическую значимость наблюдаемых изменений ( $p \leq 0,00001$ ).

Увеличение толщины эпидермиса вплоть до 140% через 8 недель в группе D происходило за счет роста общего числа клеточных слоев эпидермиса, особенно толщины зернистого слоя, а также за счет уплотнения рогового слоя (**рис. 2 А–D**).

В контрольной группе А среднее значение толщины эпидермиса составило 13,0 мкм на протяжении всего исследования.

### Изменения в дерме

Количественный анализ выявил повышение числа волокон соединительной ткани, их утолщение и равномерное распределение в сосочковом и сетчатом слое дермы в группе С, подвергнутой МИТ. Еще более выраженное увеличение плотности белковых волокон соединительной ткани отмечалось в группе D, подвергнутой МИТ и местному нанесению витаминов. В группах А и В какие-либо изменения не наблюдались (**рис. 3 А–D**).

## Экспрессия генов

Целью анализа экспрессии генов было выявление различий между группами животных на уровне регуляции генов (рис. 4).

В результате исследований было выявлено повышение экспрессии коллагена I типа после комплексного воздействия (МИТ + витамины местно, группа D) в сравнении с показателями в контрольной группе A на всех сроках с очень высоким уровнем достоверности ( $p < 10e^{-5}$ ).

Экспрессия коллагена III типа в группе D была несколько повышена только на сроке 4–8 недель ( $p = 0,00183$ ). В целом же можно сказать, что в группах C и D уровень экспрессии коллагена I и III типа был несколько повышен.

Таблица 1

Динамика изменения толщины эпидермиса кожи у экспериментальных животных после различных типов воздействия											
Сроки исследования	Группа А (контрольная)		Группа В (топическая терапия)			Группа С (микроигльчатая терапия)			Группа D (комбинированное воздействие)		
	Среднее значение, мкм	СО	Среднее значение, мкм	СО	Изменения по отношению к исходному уровню	Среднее значение, мкм	СО	Изменения по отношению к исходному уровню	Среднее значение, мкм	СО	Изменения по отношению к исходному уровню
24 часа	13,1	± 1,5	13,1	± 1,7	–	13,1	± 1,7	–	13	± 1,9	–
14-й день	13,1	± 1,2	13,2	± 1,8	+0,8 %	17,8	± 2,1	+36,9 %	19,6	± 1,4	+50,8 %
28-й день	13,1	± 1,7	14,8	± 1,4	+13,0 %	25,3	± 2,8	+94,9 %	28,2	± 4,3	+116,9 %
56-й день	13,1	± 1,1	16	± 0,9	+22,1 %	27,6	± 2,2	+112,3 %	31,2	± 1,2	+140,0 %

В сравнении с контрольной группой А в группе В было отмечено увеличение толщины эпидермиса на 22 % спустя 8 недель, обусловленное местным применением витаминов А и С. Спустя 8 недель в группе С (микроигльчатая терапия) значение толщины эпидермиса увеличилось на 112%, а в группе D (комбинированное воздействие) — на 140%. Различия имеют высокую статистическую значимость ( $p \leq 0,00001$ ).

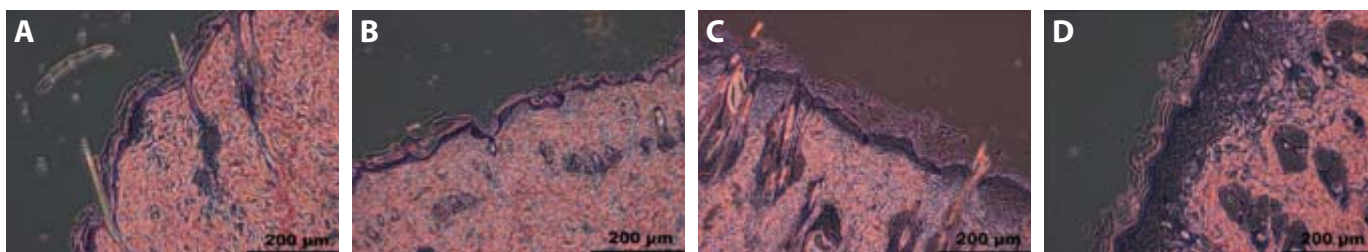


Рис. 2. Микрофотографии образцов кожи, окрашенных гематоксилином-эозином

А — кожа животных контрольной группы: толщина кожи составила 13,0 мкм в течение всего срока исследования.

В — кожа животных после 8 недель нанесения кремов с витаминами А и С.

С — кожа животных через 8 недель после процедуры МИТ.

Д — кожа животных через 8 недель после комбинированного воздействия (МИТ + топические препараты с витаминами): толщина кожи увеличилась на 140% за счет роста числа клеточных слоев эпидермиса (особенно зернистого слоя) и уплотнения рогового слоя.

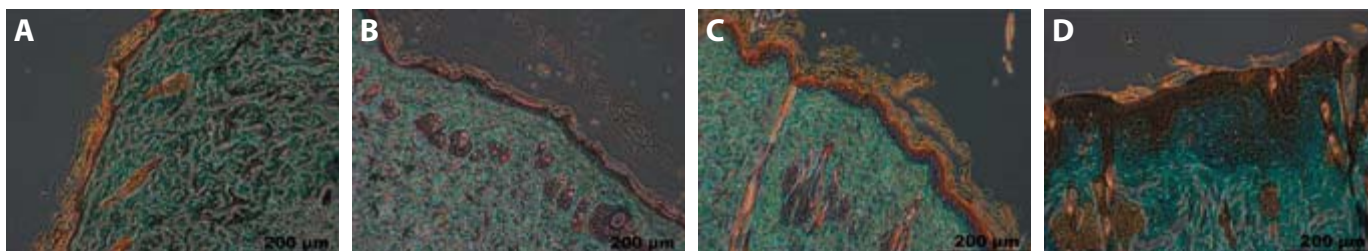


Рис. 3. Микрофотографии образцов кожи, окрашенных трихромом по Массону

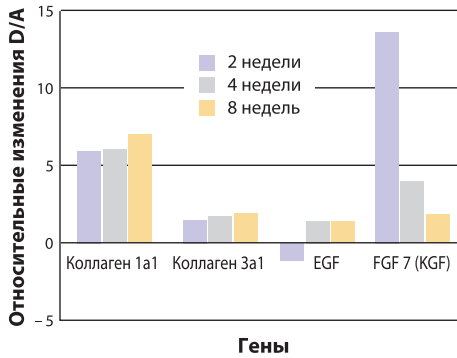
А — кожа животных контрольной группы.

В — кожа животных после 8 недель нанесения кремов с витаминами А и С.

С — кожа животных через 8 недель после процедуры МИТ.

Д — кожа животных через 8 недель после комбинированного воздействия (МИТ + топические препараты с витаминами). В группе D отмечаются увеличение количества и утолщение волокон коллагена, их достаточно рыхлое расположение в папиллярном и ретикулярном слоях дермы. Во всех группах наблюдается выраженная складчатость эпидермально-дермальной границы.





**Рис. 4. Динамика уровня экспрессии некоторых генов в коже животных группы D (комбинированное воздействие) относительно контрольной группы A**

Уровень экспрессии гена коллагена I типа после комбинированного воздействия значительно повышается, причем тенденция достоверно сохраняется на всех сроках исследования. Экспрессия коллагена III типа повышена на сроке 4–8 недель ( $p=0,00183$ ). Спустя 2 недели после процедуры МИТ уровень FGF7 в группе D был существенно повышен; спустя 4 недели уровень экспрессии значительно снизился. Экспрессия EGF значительно не повышалась. Результаты исследования подтверждают гипотезу о том, что МИТ способствует повышению экспрессии многих факторов, отвечающих за обновление коллагеновых волокон в дерме.

Анализ экспрессии факторов роста, участвующих в процессе регенерации, выявил, что уровень фактора роста фибробластов FGF7 значительно повысился в группе D спустя 2 недели после лечения с дальнейшим умеренным повышением до срока 4 недели и незначительным повышением к 8 неделям после процедуры МИТ.

В полном виде все данные представлены по ссылке GS GPL5462 в базе данных Gene Expression Omnibus (GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>).

## Коллаген I типа

По данным иммунофлуоресцентного анализа, в дерме животных всех групп была выявлена тенденция сосредоточения волокон коллагена I типа непосредственно под эпидермисом. В дерме животных группы D обнаружено значимое повышение количества коллагена, в то время как в группе A некоторые участки дермы не реагировали на антитела к коллагену. Наибольшее количество коллагена I типа в коже животных группы D наблюдали спустя 8 недель, хотя тенденция к росту прослеживалась начиная со второй недели (рис. 5 A–D).

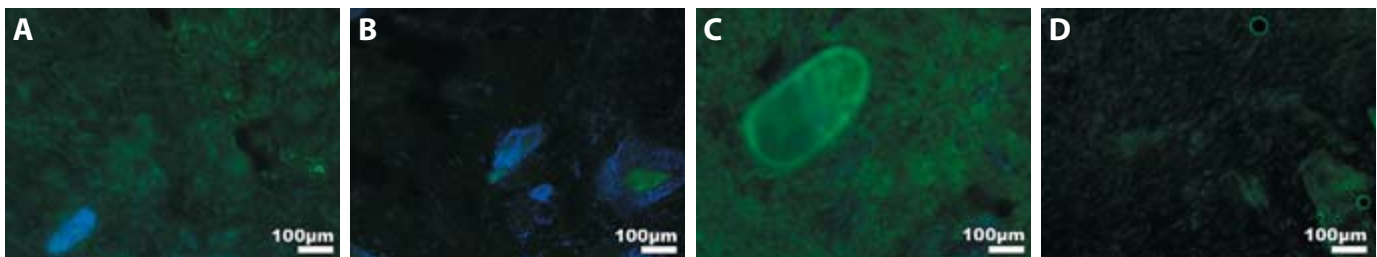
## Коллаген III типа

В коже животных, не подвергавшихся процедуре МИТ, коллаген III типа определялся на всех сроках эксперимента. После проведения МИТ повышение уровня коллагена III типа наблюдалось через 2 недели и в меньшей степени — через 4 недели после процедуры, через 8 недель уровень не отличался от контроля (рис. 6 A–D). Хотя по данным генетического анализа через 4 недели уровень экспрессии гена коллагена III типа все еще оставался достаточно высоким.

## Гликозаминогликаны

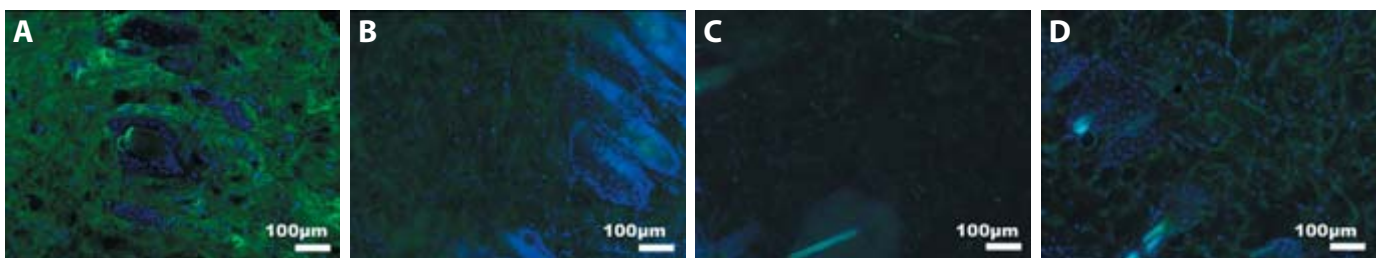
Для выявления гликозаминогликанов использовалась Шик-реакция. Окрашивание в образцах кожи животных после процедуры МИТ (группы C и D) было более выраженным и равномерным, чем в образцах групп A и B (рис. 7 A–D). В группе комплексного воздействия (D) окрашивание было наиболее интенсивным (рис. 7 D).

Для количественной оценки экспрессии ГАГ применялись антитела к хондроитин сульфату. В коже животных после процедуры МИТ были отчетливо выявлены ГАГ на границе дермы и эпидермиса, а также равномерно распределенные между волок-



**Рис. 5. Визуализация коллагена I типа методом иммунофлуоресценции**

- A — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств: определяется коллаген III типа.
- B — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.
- C — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств: отмечается небольшое количество коллагена III типа.
- D — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.



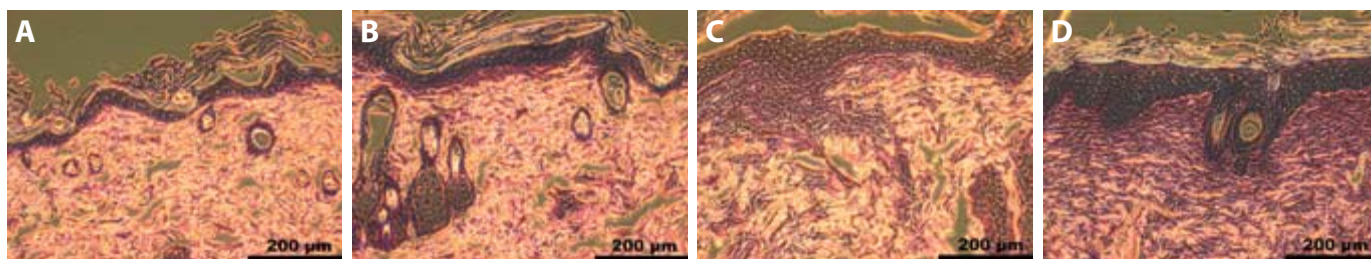
**Рис. 6. Визуализация коллагена III типа методом иммунофлуоресценции**

- A — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств: реакция на антитела отсутствует.
- B — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.
- C — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств: отмечается значительное количество коллагена во всей дерме.
- D — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.

нами коллагена в сосочковом и сетчатом слоях дермы. Кожа, не подвергнутая МИТ, также содержала достаточно большое количество ГАГ. Гликозаминогликаны равномерно распределялись по всей дерме, оставляя видимыми лишь некоторые волокна коллагена (рис. 8 А–D). В целом же можно отметить, что уровень ГАГ в коже животных после процедуры МИТ был выше (группы С и D), чем без нее (группы А и В).

### Фибронектин

В сосочковом слое дермы животных всех групп наблюдалось характерное окрашивание на фибронектин (белок, необходимый для дифференциации фибробластов). Однако наибольшая интенсивность окрашивания отмечалась в образцах кожи, подвергнутой процедуре МИТ, что совпало с данными изучения генной экспрессии (рис. 9 А–D).



**Рис. 7. Микрофотографии образцов кожи, окрашенных с помощью Шик-реакции**

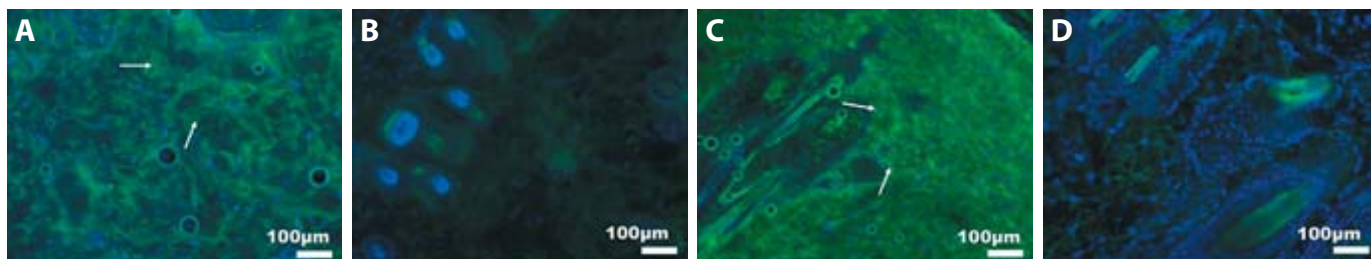
А — кожа животных контрольной группы.

В — кожа животных после 8 недель нанесения кремов с витаминами А и С.

С — кожа животных через 8 недель после процедуры МИТ.

Д — кожа животных через 8 недель после комбинированного воздействия (МИТ + топические препараты с витаминами).

Интенсивность окрашивания образцов кожи, подвергнутой процедуре МИТ (С и D), более выражена в сравнении с образцами кожи, не подвергнутыми такой процедуре (А и В). В группе D окрашивание тканей более интенсивное и равномерное. Утолщение эпидермиса после процедуры МИТ происходит за счет увеличения общего числа слоев кератиноцитов (особенно в области зернистого слоя) и уплотнения рогового слоя.



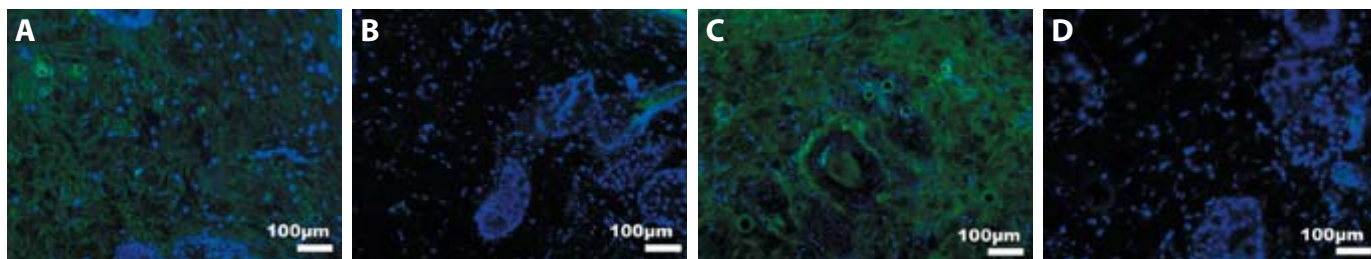
**Рис. 8. Визуализация гликозаминогликанов в дерме методом иммунофлуоресценции**

А — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств: ГАГ занимают практически весь объем дермы, оставляя видимыми лишь отдельные волокна коллагена (белые стрелки).

В — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.

С — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств: высокая концентрация ГАГ на границе дермы и эпидермиса, а также их распределение между большим количеством волокон коллагена в папиллярном и ретикулярном слоях дермы (белые стрелки).

Д — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител: существенное повышение количества ГАГ.



**Рис. 9. Визуализация фибронектина в эпидермисе и дерме методом иммунофлуоресценции**

А — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств.

В — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.

С — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств: заметно повышение содержания фибронектина в эпидермисе и дерме.

Д — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.

Окрашивание фибронектина отмечалось в папиллярном слое дермы всех групп экспериментальных животных, однако более интенсивное окрашивание наблюдалось в группах, подвергнутых процедуре МИТ.

### Фактор роста эндотелия сосудов

В дерме животных всех групп, включая контрольную (А), отмечалось положительное окрашивание на VEGF. В эпидермисе VEGF обнаруживался в межклеточных контактах на уровне базального и супрабазальных слоев, за исключением рогового. С помощью иммунофлуоресцентного анализа выявлен более высокий уровень VEGF в дерме животных после процедуры МИТ (рис. 10 А–D).

### Обсуждение

#### Сравнение кожи человека с кожей крыс линии Sprague-Dawley

Кожа крыс, как и кожа человека, состоит из кератиноцитов, клеток Лангерганса, фибробластов и меланоцитов [9]. Поэтому крысы являются одними из тех лабораторных животных, на которых проводят испытания дерматотропных препаратов и различных методов терапии. В 2005 г. Thomas опубликовал исследование, выполненное на 344 крысах, в котором зафиксированы гистологические и морфометрические изменения в коже на трех возрастных этапах (молодняк — 4 месяца, взрослые особи — до 1 года и старые особи  $\geq 24$  месяца).

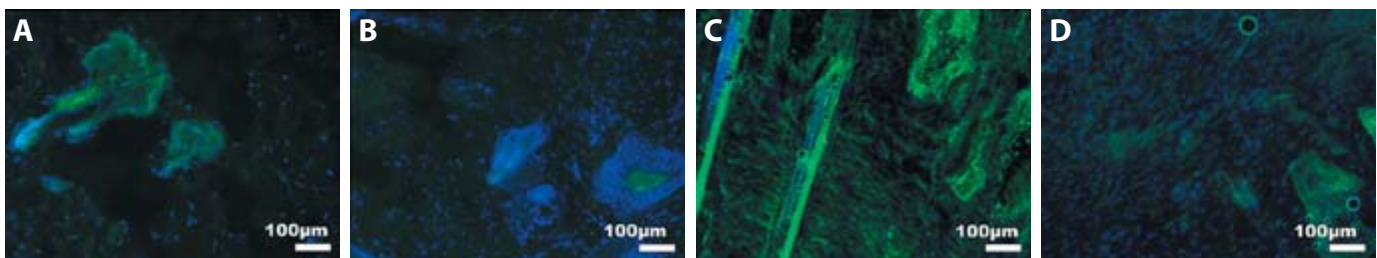
#### Воздействие на эпидермис. Обоснование использования местной терапии витаминами А и С

Известно, что витамины А и С играют важную роль в процессах синтеза коллагена, а также пролиферации и дифференциации клеток эпидермиса и дермы [6, 10–13]. Поэтому лекарственные и косметические средства, содержащие эти витамины, используются для профилактики старения кожи. Согласно клиническим наблюдениям, процедура микроигльчатой терапии также способствует ремодуляции дермы и укреплению эпидермиса. Поэтому было интересно выявить возможности совместного использования разных воздействий.

Результаты проведенного экспериментального исследования показали, что средняя толщина эпидермиса кожи со временем повышалась в группах животных, подвергнутых процедуре МИТ, по сравнению с группами, не подвергнутыми такой процедуре. В то же время на фоне топического применения витаминов толщина эпидермиса также увеличивалась на 22% по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты согласуются с данными В. Gilchrest, описавшего значительное увеличение толщины эпидермиса при местном применении витамина А [14].

#### Воздействие на дерму

Подчеркнем, что основной целью микроигльчатой терапии является стимуляция выработки коллагена путем запуска синтеза и секреции каскада сигнальных молекул, способствующих ранозаживлению после травмы. Тромбоциты и нейтрофилы способствуют секреции трансформирующих факторов роста TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и других, стимулирующих синтез компонентов внеклеточного матрикса. Фибронектиновый матрикс обеспечивает привлечение и целенаправленную ориентацию фибробластов, что предопределяет в конечном итоге правильное расположение волокон коллагена. Постепенно коллаген III типа



**Рис. 10. Визуализация VEGF в эпидермисе и дерме методом иммунофлуоресценции**

А — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств.

В — кожа животных, не подвергнутых МИТ, через 8 недель использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител.

С — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств: повышение содержания VEGF в эпидермисе и дерме.

Д — кожа животных через 8 недель после МИТ и использования топических средств, окрашивание без использования первичных антител: в межклеточных контактах клеток базального и супрабазального слоев эпидермиса отмечается окрашивание, характерное для VEGF. Иммунофлуоресцентный метод анализа позволил выявить повышение VEGF во всех группах, подвергнутых процедуре МИТ.



замещается коллагеном I типа. Эти процессы происходят на протяжении нескольких месяцев. Возможно, особенности микротравм после проведения МИТ способствуют максимально физиологичному ранозаживлению на фоне минимального влияния стресса, обусловленного воздействием воздуха, инфекцией, механическим натяжением и т.д.

В настоящем исследовании наблюдение за процессами регенерации после МИТ позволило выявить положительные качественные и количественные изменения, касающиеся волокон коллагена I типа. У животных, не подвергавшихся терапии микроиглами, волокна в папиллярном и верхнем ретикулярном слоях дермы немного утолщались, скручивались или становились аморфными.

### Влияние на маркеры старения

ГАГ, состоящие из повторяющихся дисахаридных единиц, встречаются во всех слоях кожи [15]. В силу высокой гидрофильности они играют очень важную роль, привлекая и связывая воду. Таким образом, гидратация кожи тесно связана с содержанием и распределением ГАГ. Кожа, не подвергнутая процедуре МИТ, содержит достаточно большое количество ГАГ, причем максимальная концентрация отмечается на границе эпидермиса и дермы. После проведения процедуры МИТ повышение содержания ГАГ наблюдается во всех слоях дермы, как в молодой коже.

Ранее считалось, что VEGF вырабатывается только клетками эндотелия сосудов, однако проведенные недавно исследования установили, что VEGF также синтезируется и секретируется кератиноцитами [16, 17]. Эти данные позволяют предположить, что VEGF играет важную роль в функционировании кератиноцитов. В проведенном исследовании отмечалось присутствие VEGF в эпидермисе и дерме кожи животных всех групп, однако более высокий уровень наблюдался у животных после микроиглокалывания.

Полученные данные подчеркивают важность метода МИТ в отношении стимуляции синтеза VEGF — возможного маркера процесса «омоложения» кожи.

Фибронектин является специфичным маркером для фибробластов. Проведенный эксперимент позволил выявить повышение экспрессии фибронектина в коже, подвергнутой процедуре МИТ.

Обобщая все полученные данные, можно говорить об увеличении числа клеточных компонентов дермы и повышении плотности компонентов межклеточного матрикса после проведения процедуры микроиглольчатой терапии.

### Результаты анализа экспрессии генов

Поскольку в клинической практике процедура с использованием мезороллера, как правило, проводится на фоне местного применения косметических или лекарственных препаратов, проведено прицельное сравнение результатов, полученных в группе D (комбинированная терапия), с результатами в группе A (контроль).

Результаты анализа белков внеклеточного матрикса показали, что уровень коллагена I типа на всех этапах исследования (2, 4 и 8 недель) был существенно выше в коже животных группы D по сравнению с группой A. Содержание коллагена III типа в группе D немного повысилось спустя 4 недели после процедуры. Анализ экспрессии факторов роста, играющих важную роль в процессе регенерации, выявил повышение уровня FGF-7 (фактора роста фибробластов) в группе, подвергнутой процедуре МИТ, спустя 2 недели после лечения.

С помощью микроиглольчатой терапии можно стимулировать экспрессию некоторых генов, кодирующих цитокины и белки внеклеточного матрикса. Этот факт был наглядно подтвержден в проведенных исследованиях с помощью анализа экспрессии генов, а также иммуноцитохимических методов.

## Заключение

Таким образом, в проведенном экспериментальном исследовании выявлены изменения, происходящие в коже после проведения микроиглольчатой терапии на фоне местного применения кремов с витаминами A и C (в сравнении с кожей, не подвергнутой процедуре прокалывания):

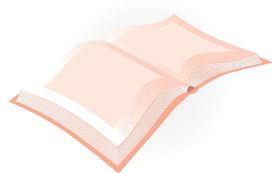


- повышение толщины эпидермиса на 140%;
- сохранение полярности кератиноцитов и нормализация кератинизации;
- выраженная складчатость границы эпидермиса и дермы;
- повышение содержания в дерме коллагена I типа, ГАГ, фибронектина, фактора роста эндотелия сосудов и других факторов роста, обеспечивающих регенерацию кожи;
- вновь синтезированные волокна коллагена более толстые;
- организация коллагеновых волокон в различных слоях дермы соответствует картине молодой здоровой кожи.

Полученные результаты позволяют предположить, что индукция синтеза коллагена путем микроигльчатой терапии представляет собой эффективный метод омоложения кожи. Восстановление кожи после микротравм происходит максимально физиологичным путем, без риска фиброзных изменений. Позитивные изменения на уровне эпидермиса обеспечивают улучшение барьерной функции кожи. Можно смело сказать, что метод микроигльчатой терапии на сегодняшний день имеет очень убедительную доказательную базу, собранную с использованием самых современных методов исследования.

*Авторы исследования благодарят A.Lazaridis за оказание технической помощи.*

*Работа не финансировалась заинтересованными компаниями.*



### Литература

1. El Domyati M., Attia S., Saleh F. et al. Intrinsic aging vs. Photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol.* 2002; 11: 398–405.
2. Dzubow L. The aging face. In: Coleman W.P., Hanke W.C., Alt T.H., Asken S., editors. *Cosmetic surgery of the skin.* Philadelphia PA: B.C. Decker Inc.; 1991: 1–12.
3. Uitto J., Bernstein E.F. Molecular mechanisms of cutaneous aging: connective tissue alterations in the dermis. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1998; 3: 41–44.
4. Aust M.C., Fernandes D., Kaplan H.M. et al. Collagen induction therapy an alternative treatment for scars, wrinkles and skin laxity. *Plast Reconstr Surg.* 2008; 121: 1421–1429.
5. Aust M.C., Reimers K., Repenning C. et al. Percutaneous collagen induction: minimally invasive skin rejuvenation without risk of hyperpigmentation—fact or fiction? *Plast Reconstr Surg.* 2008; 122: 1553–1563.
6. Fernandes D. Percutaneous collagen induction: an alternative to laser resurfacing. *Aesthetic Surg* 2002; 22: 315–317.
7. Orentreich D.S., Orentreich N. Subcutaneous incisionless (subcision) surgery for the correction of depressed scars and wrinkles. *Dermatol Surg.* 1995; 21: 543–549.
8. Camirand A., Doucet J. Needle dermabrasion. *Aesthetic Plast. Surg.* 1997; 21: 48–51.
9. Thomas J.R. Effects of age and diet on rat skin histology. *Laryngoscope.* 2005; 115: 405.
10. Chapellier B., Mark M., Messaddeq N. et al. Physiological and retinoid-induced proliferations of epidermis basal keratinocytes are differently controlled. *EMBO J.* 2002; 21: 3402–3413.
11. Ghyselinck N.B., Chapellier B., Calleja C. et al. Genetic dissection of retinoic acid function in epidermis physiology. *Ann Dermatol Venerol.* 2002; 129: 793–799.
12. Gilchrist B.A. Treatment of photodamage with topical tretinoin: an overview. *J Am Acad Dermatol.* 1997; 36: 27–36.
13. Nusgens B.V., Humbert P., Rougier A. et al. Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis. *J Invest Dermatol.* 2001; 116: 853–859.
14. Gilchrist B.A. A review of skin ageing and its medical therapy. *Br J Dermatol.* 1996; 135: 867–875.
15. Bernstein E.F., Underhill C.B., Hahn P.J. et al. Chronic sun exposure alters both the content and distribution of dermal glycosaminoglycans. *Br J Dermatol.* 1996; 135: 255–262.
16. Man X.Y., Yang X.H., Cai S.Q. et al. Immunolocalisation and expression of vascular endothelial growth factor receptors (VEGFRs) and neutrophilins (NPRs) on keratinocytes in human epidermis. *Mol Med.* 2006; 12: 127–136.
17. Wilgus T.A., Matthias A.M., Radek K.A. et al. Novel function for vascular endothelial growth factor receptor-1 on epidermal keratinocytes. *Am J Pathol.* 2005; 167: 1257–1266.