

*Посвящается моей дорогой жене Розе,
которая вдохновляла меня на протяжении
всего времени работы над этой книгой*

Биология перешла от макроскопических наблюдений и опытов к детальному исследованию клеточных структур и раскрыла молекулярную природу ряда основных явлений жизни.

*М. Волькенштейн
(из книги «Молекулы и жизнь»)*

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	10
Список сокращений и условных обозначений	14
Глава 1. Межклеточный матрикс кожи. Общие положения	16
1.1. Введение: химия и физика в биологии межклеточного матрикса	17
1.2. Разнообразие структуры и группового состава межклеточного вещества кожи	19
1.2.1. Коллаген и эластин	22
1.2.2. Гликопротеины и протеогликаны	26
1.2.3. Гликозаминогликаны	29
1.3. Роль межклеточного матрикса кожи в молекулярной косметологии	31
1.3.1. Процессы, протекающие при старении межклеточного матрикса. Сигнальные механизмы старения кожи.	33
1.3.1.1. Изменения в механике взаимоотношений матрикс—фибробласт при старении кожи	38
1.3.2. Реструктурирование межклеточного матрикса в ответ на внутритрожные инъекции микроимплантатов. Управляемая активность клеток кожи	42
1.3.2.1. Механические напряжения в межклеточном матриксе — триггер процесса неоколлагенеза	43
1.3.2.2. Возможное влияние химического состава гидрогелевых микроимплантатов на поведение клеток в межклеточном матриксе.	46
Глава 2. Коллаген	51
2.1. Этапы синтеза и созревания коллагена	52
2.2. Катаболизм коллагена (матриксные металлопротеиназы)	59
2.3. Современные представления о дермальном фиброзе	68
2.3.1. Молекулярные аспекты развития фиброза	69
2.3.2. Фиброз как результат патологических изменений в жировой ткани	74
2.3.3. Роль гиалуроновой кислоты в развитии фиброза	78

2.3.4. Терапия фиброза	80
2.4. Химическая трансформация коллагена, приводящая к постепенной деградациии тканей	82
2.4.1. Гликирование коллагеновых белков дермы.	84
2.4.2. Связь гликирования и старения кожи	89
2.5. Рекombинантный коллаген и перспективы его применения в медицинских областях, включая молекулярную косметологию	91
2.5.1. Стратегия создания рекombинантного коллагена.	93
2.5.2. Взаимодействие рекombинантных коллагенов с клетками. Гибридные белки на основе рекombинантного коллагена	95
2.6. Современные тенденции в производстве и применении коллагеновых гидрогелей	97
2.6.1. Композитные гидрогели с натуральным коллагеном.	99
2.7. Синтетические пептиды для омоложения кожи	103
2.7.1. Пептиды, ингибирующие активность белков-нейротрансмиттеров в коже	105
2.7.2. Пептиды как переносчики (металлов)	108
2.7.3. Пептиды в качестве сигнальных молекул в коже	108
2.7.4. Антивозрастные пептиды	110
2.7.5. Заключение по косметическим пептидам	112
2.8. Натуральные флавоноиды против старения кожи. Участие в синтезе коллагена <i>de novo</i>	113
Глава 3. Эластин	117
3.1. Процесс синтеза и формирование структуры эластина	118
3.2. Катаболизм эластина	128
3.3. Эластокины — регуляторные пептиды эластина.	129
3.4. Рецепторы эластина	130
3.5. Эластин — важный объект биотехнологий и молекулярной косметологии	132
3.5.1. Рекombинантный эластин — биоматериал для разнообразных биомедицинских приложений	135
3.5.2. Рекombинантный эластин в эстетической медицине.	138
Глава 4. Гиалуроновая кислота (гиалуронан)	140
4.1. Биосинтез гиалуроновой кислоты	140

4.1.1. Функциональные различия синтетаз HAS.	145
4.1.2. Внутриклеточные факторы, регулирующие синтез гиалуронана.	147
4.2. Рецепторы гиалуроновой кислоты.	149
4.2.1. Структура и функционирование рецептора CD44 в нормальных клетках.	150
4.2.2. Механизм связывания гиалуронана с CD44	151
4.2.3. Рецептор RHAMM.	152
4.2.4. Клеточные рецепторы layilin, HARE, TLR-2/4 и LYVE-1	153
4.3. Рецепторы гиалуроновой кислоты и эндоцитоз	155
4.4. Роль рецепторов в переносе сигналов внутрь клетки (сигнальная трансдукция)	156
4.5. Катаболизм гиалуроновой кислоты.	159
4.5.1. Структура, свойства и функции гиалуронидаз	151
4.6. Участие гиалуроновой кислоты в регуляции клеточного цикла.	166
4.6.1. Ключевые этапы клеточного цикла	166
4.6.2. Роль гиалуроновой кислоты и ее рецепторов в инициировании клеточного цикла.	168
4.7. Новые тенденции в производстве и применении гидрогелей гиалуроновой кислоты в инъекционной косметологии	173
4.7.1. Реология гидрогелей гиалуронана и ее связь с клиническими эффектами.	174
4.7.2. Выбор «правильного» геля на примере филлеров с гиалуроновой кислотой линии Vycross™.	179
4.7.3. Композитные филлеры с гиалуроновой кислотой (с поли-L-молочной кислотой, полинуклеотидами, карнозином)	181
Литература.	185
Глава 5. Микроэлементы на «маршрутах активного долголетия».	186
5.1. Введение.	186
5.2. Роль и значение микроэлементов в эстетической и биомедицине	192

5.2.1. Цинк	192
5.2.2. Магний	199
5.2.3. Марганец	204
5.2.4. Кобальт.	205
5.2.5. Хром, селен	207
5.2.6. Медь	210
5.2.7. Кремний.	212
5.2.8. Фосфор.	217
5.2.9. Кальций	220
5.3. Влияние микрометаллоэлементов на вязкостно-эластичные свойства гидрогелей на основе гиалуроновой кислоты.	221
Литература.	227
Глава 6. Современные методы анализа, составляющие основу молекулярной косметологии	228
6.1. Метод микробиочипов применительно к транскриптому старения.	233
6.2. Протеомный анализ	234
6.2.1. Молекулярная иммунофлуоресцентная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.	234
6.2.2. Фингерпринтинг пептидов.	235
6.3. Метод АМТ/Т — пересадка в эпидермис молодых митохондрий.	235
6.4. Метод «переходного перепрограммирования в фазе созревания клетки»	237
Литература.	238
Глава 7. Взгляд с позиции молекулярной косметологии на инъекционные препараты в эстетической медицине	239
7.1. Вместо введения	239
7.2. Некоторые аспекты молекулярного механизма старения кожи.	245
7.2.1. Процессы, протекающие при старении эпидермиса	247
7.2.2. Окислительный стресс и матриксные металлопротеиназы при старении кожи.	250
7.2.3. Роль цитокинов в стареющей коже	251
7.2.4. Укорочение теломер и старение кожи	252

7.2.5. Аутофагия и старение кожи	252
7.2.6. Роль апоптоза при старении кожи.	253
7.2.7. Роль малых некодирующих молекул рибонуклеиновой кислоты при старении кожи	253
7.2.8. Роль микробиома кожи в старении.	254
7.2.9. Изменения в пигментации стареющей кожи	255
7.3. Нейроэндокринные биомаркеры — сигнальные белки, регулирующие клеточный и тканевый гомеостаз. Панель белковых биомаркеров старения кожи.	256
7.4. Оценка эффективности применения инъекционных препаратов на основе гиалуроновой кислоты с позиций молекулярной косметологии	267
7.4.1. Экспериментальные результаты влияния гидрогелевых материалов на основе гиалуроновой кислоты на клеточные культуры кожи <i>in vitro</i>	268
7.4.2. Гистологические и иммуногистохимические исследования <i>in vivo</i> внутридермальных микроимплантатов гиалуроновой кислоты.	275
7.4.2.1. Экспериментальные результаты исследований <i>in vivo</i> препарата «Голдгиал»	278
7.4.2.2. Экспериментальные результаты исследований <i>in vivo</i> препаратов «Скинопро», «Кремнивайз», «Аутлайнгель», «Магнидерм», «Контургель-ХПМ», «Трескомплекс»	284
7.4.2.3. Препараты «Скинопро форте», «Скинопро актив» с ионами цинка и кремния, «Кремнивайз» с ионами кремния, «Тетраскил нормал», «Тетраскил форте» с активным фосфором. Результаты иммуногистохимического исследования на разных возрастных группах пациентов	296
7.4.2.4. Эластин и лизилоксидаза — важные маркеры, определяющие состояние кожных покровов	314
7.4.2.5. Аквапорины (акваглицеропорины) — семейство белков, обеспечивающих трансмембранный транспорт воды в коже	318

7.4.2.6. Инъекционные гиалуроновые гели нового поколения «Гиатрол» и «Биоселект» с ресвератролом и кверцетином	327
7.5. Заключение	332
Приложение. Современные представления о молекулярно-клеточном старении кожи. Что такое сенолитики? ...	337
Предметный указатель	360

Глава 1

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС КОЖИ. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

В многоклеточных организмах большинство клеток окружено меж(вне)-клеточным матриксом. Организация этого матрикса в основном имеет белковую природу: он содержит коллагены, эластины различных типов и другие структурные белки. Взаимодействие клеточных структур со средой, их реакция на внешние раздражители определяются локальными физико-химическими и топографическими особенностями микроокружения. Межклеточный матрикс играет определяющую роль в поведении клетки: управляет внешними сигналами, что, в свою очередь, регулирует клеточные функции — пролиферацию, развитие, организацию, метаболизм и т.д. В последние годы стала очевидной особая роль внеклеточного матрикса в процессах клеточной сигнализации; получены новые данные о сигнальных молекулах, регулирующих поведение основных компонентов межклеточного вещества и учитывающих особенности взаимодействия матрикса с клеткой. Необходимые взаимодействия в системе клетка—матрикс распределяются по клеточным структурам за счет межклеточных регуляторных связей, причем именно эти взаимодействия особенно важны для интеграции и усиления внеклеточных сигналов белкового синтеза. Белки синтезируются по плану, закодированному в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) при непосредственном участии различных типов рибонуклеиновой кислоты (РНК). Схема в первом приближении достаточно простая и сводится к передаче информации ДНК—РНК—белок, хотя, конечно, действительность гораздо сложнее. Белок, например коллаген или эластин, синтезируется в клетке не непрерывно, а лишь на определенных стадиях ее развития при включении обратной связи в системе регуляции матрикс—клетка. Изучение природы этой регуляции, нахождение молекулярных «контуров» обратной связи при проведении различных косметологических манипуляций — одна из задач молекулярной косметологии. Формирование этого нового научно-практического направления — «молекулярная косметология» —

в разделе эстетической антивозрастной медицины практически целиком опирается на современные научно-исследовательские работы в области молекулярной биологии, биофизики, клеточной биохимии, гистологии, нейроэндокринологии.

1.1. ВВЕДЕНИЕ: ХИМИЯ И ФИЗИКА В БИОЛОГИИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Соединительные ткани отличаются малым составом клеток и большим количеством межклеточного вещества, организованного в четко упорядоченный межклеточный матрикс. Эволюционно более молодые, происходящие из мезенхимы соединительные ткани образуют опорный каркас всех органов и выполняют опорные, защитные и трофические функции. Эти функции реализуются главным образом через межклеточный матрикс соединительных тканей. В разных типах соединительных тканей синтезируются различные химические структуры матрикса с отличающимися физическими свойствами (текучесть, эластичность, прочность) для выполнения разнообразных биологических функций. Понять, какие химические соединения формируют необходимые физические свойства структур межклеточного вещества и по каким механизмам они трансформируются в физиологические функции, — задача, решение которой требует междисциплинарного взаимодействия физики, химии, биологии. Сравнительно недавно стало ясно, что растяжимость и прочность фибрилл межклеточного матрикса дермы служат важными факторами регуляции клеточных функций. Метаболическая активность клеток зависит от таких фундаментальных физических процессов, как диффузия, осмос, электроосмос в транспорте веществ через межклеточное вещество. Образованием фокальных (локальных) контактов клеток с коллагеновыми волокнами матрикса создается увеличение площади цитоплазматической мембраны и активность прямого (в клетку) и обратного (из клетки) транспорта метаболитов. Эти процессы зависят от химического строения матриксных волокон и физической величины их растяжимости. Некоторые матриксные структуры обладают пьезоэлектрическими свойствами и могут трансформировать электрические сигналы в механические, а механические — в электрические. Таким образом, в межклеточном пространстве формируется биомеханическая регуляторная система взаимодействий матрикс—клетка и клетка—матрикс. Локальное механическое взаимодействие между клеткой и ее микроокружением становится объединяющим принципом, который связывает как микроуровневую, так и макроуровневую архитектуру тканей с формой,

организацией и дифференцировкой клеток. В рамках этой регуляторной системы активно исследуются вопросы дальнего действия механических влияний межклеточного вещества через внутриклеточный и ядерный матрикс на механохимические изменения структур хроматина, активность генов и биохимические процессы в нормальных и раковых клетках. Известно, что клеточная физика движений и механика межклеточного матрикса выступают мотивирующими факторами клеточной дифференциации, миграции и морфогенеза. Вместе с тем механика и связанная с ней механотрансдукция — механизмы, с помощью которых клетки преобразуют механические стимулы в биохимический ответ, — играют существенную роль во многих патологических состояниях человека, включая процессы старения тканей. Физика движений внутриклеточных структур и клеток осуществляется в основном за счет энергии гуанозинтрифосфата. Этот рибонуклеозид-5-трифосфат служит переносчиком высокоэнергетических фосфатных групп в различных биохимических реакциях, вызывающих механическую сигнализацию. Наиболее характерный пример — транслокация (перемещение) рибосом по мРНК в матричном синтезе белков. Эта развивающаяся область механической сигнализации широко распространена для всех типов клеток. Микроокружение клетки вызывает сложный спектр различных биохимических, структурных и механических стимулов. Этот процесс зависит от межклеточных адгезий, а также от сократительной способности клеток, опосредованной гуанозинтрифосфатазами. Эти ферменты обеспечивают функциональные связи за счет энергии гуанозинтрифосфата, через которые физические силы передаются на цитоскелет другим внутриклеточным структурам. В сложноорганизованном межклеточном веществе микроокружение клетки сталкивается со множеством координированных активных стимулов биохимического, структурного и механического характера. Механические силы играют значительную роль в регулировании развития и правильного функционирования практически всех клеток человеческого организма. Таким образом, межклеточный матрикс соединительных тканей является для клеток своеобразным информационным полем, где концентрируются химические и физические стресс-факторы и создаются потоки химических и физических сигналов для выбора стратегии адаптации и эпигенеза клетки. Дополнительно к биохимической системе регуляции (аутокринной и паракринной) химическими эффекторами в межклеточном пространстве присутствует не менее важная физическая (механическая) система регуляции.

Структуры матрикса изменяются во времени вследствие химических превращений веществ и химических модификаций матриксных биопо-

лимеров по закону действующих масс, принципу Ле Шателье и другим основополагающим химическим закономерностям. В матриксе сосредоточены самые долгоживущие коллагеновые и эластиновые белки, которые накапливают повреждения от химических, физических факторов и подвергаются старению. Активно изучаются процессы в механобиологии и механорегуляции старения матриксных биополимеров, от которых зависит старение многих систем организма. Фрагментация биополимеров матрикса физическими и химическими факторами приводит к формированию жидкокристаллических структур в межклеточном веществе. Обладая свойствами самоорганизации, спонтанного образования упорядоченных структур и высокой чувствительности реагирования на сверхнизкие интенсивности физических и сверхмалые дозы химических сигналов, жидкокристаллические структуры могут изменять биологические свойства ткани.

Таким образом, межклеточный матрикс соединительных тканей с его уникальными свойствами становится самостоятельным объектом исследований, сосредоточенных на понимании физической сущности химических процессов, протекающих в молекулярно-организованных биологических системах.

1.2. РАЗНООБРАЗИЕ СТРУКТУРЫ И ГРУППОВОГО СОСТАВА МЕЖКЛЕТОЧНОГО ВЕЩЕСТВА КОЖИ

Основные компоненты межклеточного вещества кожи принадлежат к нескольким классам биологических молекул: структурные белки — коллаген и эластин, гликопротеины (в том числе неколлагеновые структурные адгезивные белки фибронектин, ламинин и др.), протеогликаны, гликозаминогликаны (ГАГ). На молекулярный состав матрикса оказывают влияние транзиторные клетки (лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, макрофаги и др.), которые мигрируют в дерму из крови в ответ на специфические стимулы. Межклеточный матрикс представляет собой внешнюю экологическую нишу, в которую клетки «делегируют» ферменты, а также их ингибиторы и активаторы, способные замедлять или ускорять сборку или распад межклеточных структур. Кроме того, внеклеточное вещество представляет собой резервуар сигнальных молекул, которые через рецепторы сообщают клеткам о состоянии матрикса и необходимых адаптивных синтезах в ответ на изменения в межклеточной нише. Характерная особенность дермы и других соединительных тканей состоит в том, что биосинтез основных макромолекул происходит внутри клеток обособленно. Только после выхода

макромолекул в межклеточное пространство между ними возникают взаимодействия, в результате которых образуются высокоорганизованные матриксные структуры (рис. 1.1).

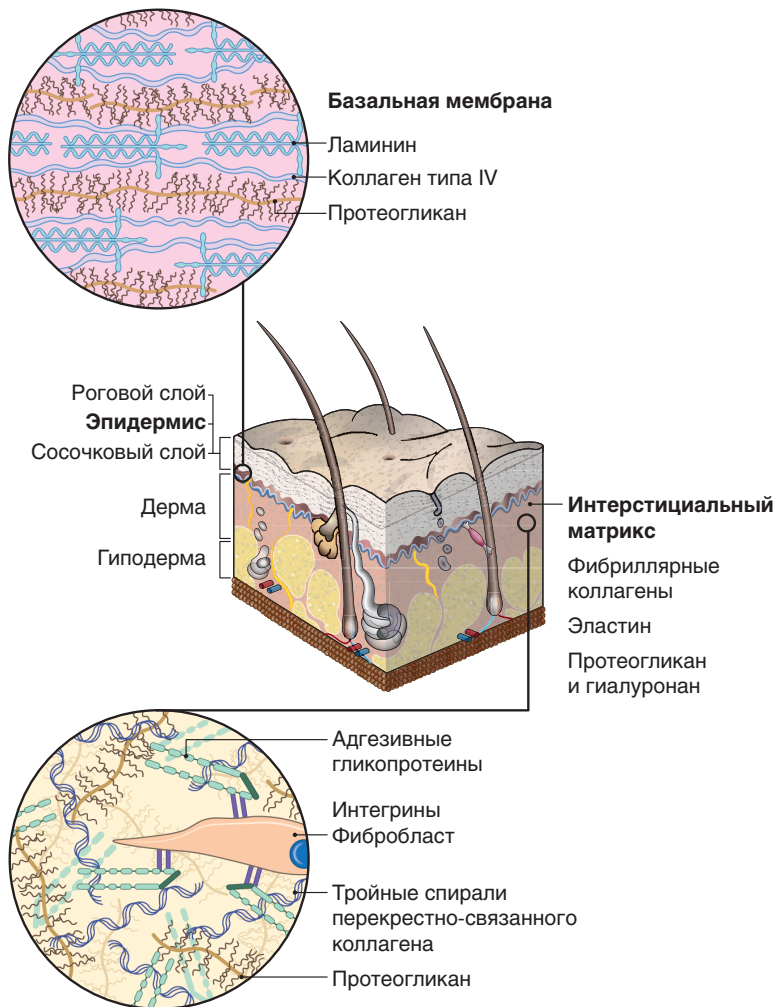


Рис. 1.1. Основные компоненты внеклеточного матрикса дермы: волокнистые структурные белки (коллагены и эластины), адгезивные гликопротеины, протеогликан и гиалуронан. Взаимодействие фибробластов с внеклеточным матриксом осуществляется через белки интегрины

Это переносит координацию, сопряжение, интеграцию синтезов, функционирование и достижение гомеостаза ткани на уровень взаимодействия клетка—матрикс и матрикс—клетка, который осуществляется посредством участия белков интегринов. Например, при выделении молекул из внеклеточного матрикса и добавлении их к культуре растущих фибробластов наблюдаются значительные изменения формы, подвижности, полярности и дифференцировки клеток. Большинство этих фенотипических изменений обусловлены интегринными в местах контакта компонентов матрикса и активируют внутриклеточные сигнальные пути. Механизм передачи сигнала интегринными аналогичен передаче гормонального сигнала в клетки-мишени. Так формируются важнейшие согласованные отношения между межклеточным веществом и клеткой (рис. 1.2).

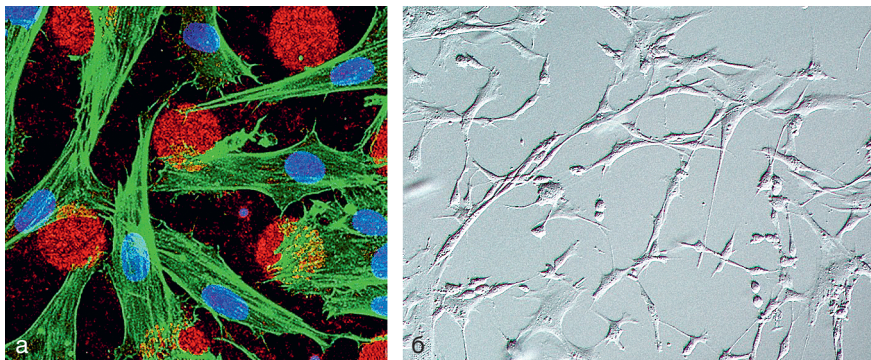


Рис. 1.2. а — Конфокальная сканирующая микроскопия. Актиновый цитоскелет — зеленая флюоресценция, ядра — синяя флюоресценция. Коллаген — красная флюоресценция; б — контраст, $\times 10$

Сигналы из межклеточного вещества контролируют дифференцировку, полярность, миграцию, выживаемость клеток, которые выражаются в активации/замедлении синтезов биомолекул для обновления матриксных структур кожи. Постоянная перестройка основных макромолекулярных компонентов приводит к необходимым изменениям клеточного окружения. Процессы перестройки межклеточного вещества являются важной составной частью физиологического ремоделирования ткани. Динамический баланс между синтезом и распадом матриксных структур дермы играет решающую роль в сохранении здоровья и молодости кожи.