

ПРЕПАРАТЫ ЛИНЕЙКИ NOVACUTAN КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ДЕРМАТОГЕРОПРОТЕКТИВЫ: МОЛЕКУЛЯРНО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

З.И. Газитаева^{1,2}, А.О. Дробинцева³, В.О. Полякова³, И.М. Кветной⁴, А.Ю. Прокопов⁵

¹Институт красоты Fijie, Российская Федерация, 119121, Москва, 7-й Ростовский переулок, д. 11;
²АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»,
Российская Федерация, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3; ³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Российская Федерация,
194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2; ⁴Санкт-Петербургский государственный университет,
Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9; ⁵ООО РОС-Химия,
Российская Федерация, 620000, Екатеринбург, ул. Первомайская, 15-705

E-mail: anna.drobintseva@gmail.com

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Газитаева Зарема Ибрагимовна – руководитель отдела медицинского сопровождения. Институт красоты Fijie. Тел.: +7 (926) 811-21-19. E-mail: gazitaevadoctor@gmail.com ORCID: 0000-0001-6958-3572

Дробинцева Анна Олеговна – доцент кафедры медицинской биологии. ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России. Кандидат биологических наук, доцент. Тел.: +7 (981) 185-36-07. E-mail: anna.drobintseva@gmail.com ORCID: 0000-0002-6833-6243

Полякова Виктория Олеговна – заведующая НИЦ. ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России. Доктор биологических наук, профессор. Тел.: +7 (911) 921-08-49. E-mail: vopol@yandex.ru ORCID: 0000-0001-8682-9909

Кветной Игорь Моисеевич – руководитель Центра молекулярной биомедицины Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ. Доктор медицинских наук, профессор. Тел.: +7 (911) 927-84-14. E-mail: igor.kvetnoy@yandex.ru ORCID: 0000-0001-7302-5581

Прокопов Алексей Юрьевич – директор ООО РОС-Химия. Кандидат медицинских наук. Тел.: +7 (912) 241-48-70. E-mail: a.prokopov@ros-chimia.ru ORCID: 0000-0001-8218-535X

Введение. Работа посвящена исследованию потенциальных геропротективов – новых препаратов для биоревитализации кожи Novacutan SBio и Novacutan YBio. Для оценки общего старения клеток использованы маркеры Klotho; антиоксидантного статуса клеток – МТН1; УФ-устойчивости клеток – AP-1. Для оценки синтетической активности клеток использован эластин и коллаген.

Цель исследования – сравнительная оценка геропротективных свойств препаратов Novacutan YBio и Novacutan SBio.

Методы. Для изучения старения клеток кожи в культуре использовали метод совместного культивирования фибробластов и кератиноцитов кожи человека, а для верификации экспрессии сигнальных молекул – маркеров старения – методы иммуноцитохимии и конфокальную микроскопию. In vitro эксперимент дополнен исследованием биопсий кожи пациентов после применения различных способов терапии с применением препаратов Novacutan.

Результаты. Изучалась экспрессия сигнальных молекул/маркеров AP-1, Klotho, Elastin, МТН-1 в образцах «молодых» и «старых» клеточных культур фибробластов и кератиноцитов человека при воздействии на них препаратами Novacutan Y и Novacutan S. Показано стимулирующее действие препаратов Novacutan на экспрессию маркеров Klotho, Elastin, МТН-1 и ингибирующее действие – на экспрессию AP-1 при старении клеток в культурах. В условиях in vitro установлено, что препараты Novacutan YBio и SBio активируют синтетические процессы в коже. При этом наиболее благоприятной является комбинированная терапия лазерной шлифовки кожи с курсами биоревитализации Novacutan.

Заключение. Проведенные исследования позволяют рассматривать Novacutan как препарат, обладающий выраженными общерегуляторными и дерматогеропротективными свойствами.

Ключевые слова: старение кожи, биоревитализация, коллаген, репаративные процессы, белок клото, фотостарение

NOVACUTAN PREPARATIONS AS POTENTIAL DERMATOGEROPROTECTORS: MOLECULAR-MICROSCOPIC STUDY

Z.I. Gazitaeva^{1,2}, A.O. Drobintseva³, V.O. Polyakova³, I.M. Kvetnoy⁴, A.Yu. Prokopov⁵

¹Institute of Beauty Fijie, 7th Rostovsky Bystreet, 11, Moscow, 119121, Russian Federation;

²St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology Russian Federation, Dynamo Ave. 3, St. Petersburg, 197110, Russian Federation;

³St. Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya Str. 2, St. Petersburg, 194100, Russian Federation;

⁴St. Petersburg State University, Universitetskaya Emb. 7/9, St. Petersburg, 199034, Russian Federation;

⁵ROS-Chimia Ltd, Pervomayskaya str, 15-705, Ekaterinburg, 620000, Russian Federation

E-mail: anna.drobintseva@gmail.com

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Gazitaeva Zarema Ibragimovna – Head of the Department of Medical Support. Institute of beauty Fiji. Tel.: +7 (926) 811-21-19. E-mail: gazitaevadoctor@gmail.com ORCID: 0000-0001-6958-3572

Drobintseva Anna Olegovna – assistant professor. Department of medical biology. Saint Petersburg State Pediatric Medical University. PhD in Biology, assistant professor. Tel.: +7 (981) 185-36-07. E-mail: anna.drobintseva@gmail.com ORCID: 0000-0002-6833-6243

Polyakova Victoria Olegovna – head of research center. Saint Petersburg State Pediatric Medical University. PhD in biology, professor. Tel.: +7 (911) 921-08-49. E-mail: vopol@yandex.ru ORCID: 0000-0001-8682-9909

Kvetnoy Igor Moiseevich – head of molecular biomedicine center St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology. PhD in medicine, professor. Tel.: +7 (911) 927-84-14. E-mail: igor.kvetnoy@yandex.ru ORCID: 0000-0001-7302-5581

Prokopov Aleksei Yurevich – director. ROS-Chimia Ltd. Ph. d. med. Tel.: +7 (912) 241-48-70. E-mail: a.prokopov@ros-chimia.ru ORCID: 0000-0001-8218-535X

Introduction. The work is devoted to study of new medication Novacutan SBio and Novacutan YBio as potential geroprotectors for biorevitalization of the skin. Klotho was used as a marker – to assess the overall aging of cells; MTH1 – the antioxidant status of cells; AR-1 – U.V. resistance of cells; synthetic activity of cells: elastin and collagen.

The aim of the study was to compare the geroprotective properties of Novacutan YBio and Novacutan SBio.

Methods. To study the aging of skin cells in culture, we used the method of combined cultivation of fibroblasts and keratinocytes of human skin, and to verify the expression of signaling molecules – aging markers – methods of immunocytochemistry and confocal microscopy. An in vitro experiment was performed to study of biopsies of the skin of patients after applying various therapies using Novacutan preparations.

Results. We studied the expression of signaling molecules/markers AP-1, Klotho, Elastin, MTH-1 in samples of “young” and «old» cell cultures of human fibroblasts and keratinocytes when exposed to them with Novacutan YBio and Novacutan SBio. The authors showed a stimulating effect of Novacutan on the expression of markers Klotho, Elastin, MTH-1, and inhibitory effect on AP-1 expression during cell aging in cultures. Under in vitro conditions. Novacutan Y and S preparations were found to activate synthetic processes in the skin. In this case, the combination therapy of laser skin resurfacing with Novacutan biorevitalization courses is the most favorable.

Conclusion. These studies allow considering the preparation Novacutan as a drug with pronounced general regulatory and dermatogeroprotective properties.

Key words: skin aging, biorevitalization, collagen, reparative processes, klotho protein, photoaging

За последние несколько десятилетий желание пациентов выглядеть и чувствовать себя моложе обусловили увеличение спроса на услуги эстетической медицины и косметологической дерматологии во всем мире, в том числе в России. По данным аналитического центра Vademecum, в 2017 г. в России проведено 6,7 млн инъекционных процедур (в 2020 г. эта цифра существенно выше) с использованием ботулотоксина, филлеров и биоревитализантов, рост составил 4% [1].

Работа посвящена исследованию новых препаратов для биоревитализации кожи Novacutan SBio и Novacutan YBio, основу которых составляет гиалуроновая кислота, обладающих уникальным комплексом смеси солей натрия, кальция, магния и 8 аминокислот, включая 6 незаменимых – аргинин, глутаминовая кислота, метионин, глицин, фенилаланин, валин, треонин, пролин. Исследование является комплексным и проведено как на совместной культуре фибробластов и кератиноцитов кожи, так и у пациентов, причем сравнивались различные методики омоложения.

Возраст, в котором люди прибегают к косметическим процедурам, продолжает расширяться. В то время, как зрелые пациенты хотят выглядеть моложе, более молодые знают, что лучшим способом сохранить красоту и замедлить старение является профилактика преждевременного старения. Препараты YBio и SBio рассчитаны на разные возрастные категории, если Novacutan YBio может применяться у более

молодых пациентов 25+ и бороться с темными кругами под глазами и обеспечивать гидратацию кожи, то Novacutan SBio обладает удвоенной концентрацией аминокислот и обеспечивает борьбу с мелкими морщинами, а также обладает лифтинг-эффектом.

Характеристика маркеров старения клеток

AP-1 или активаторный белок-1 – транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию гена в ответ на различные раздражители [2]. К таким раздражителям относятся цитокины, факторы роста, стресс и различного рода бактериальные и вирусные инфекции [2, 3].

AP-1 способен регулировать экспрессию и функцию регуляторов клеточного цикла, таких как cyclin D1, cyclin A, cyclin E, p53, p21Cip1, p16Ink4a и p19ARF, тем самым играя важную роль в процессах клеточной пролиферации [4].

Установлено участие AP-1 в процессах снижения синтеза коллагена I типа при процессах фотостарения. Происходит это следующим образом: при воздействии солнца ультрафиолетовое (УФ) излучение генерирует активные формы кислорода (АФК), которые активируют фактор роста и рецепторы цитокинов на фибробластах в коже. Активированные рецепторы стимулируют p38 и JNK, члены сигнального каскада MAPK и c-Fos и c-Jun впоследствии объединяются для образования AP-1, который стимулирует транскрипцию матричной металлопротеиназы (ММП) [5].

Klotho (клото) — трансмембранный белок, относящийся к подсемейству β-глюкуронидаз семейства 1 гликозидаз, регулирующий чувствительность организма к инсулину, взаимодействующий с несколькими рецепторами [6]. Экспрессия klotho тканеспецифична, высокий уровень экспрессии отмечен в почках, сосудистом сплетении и паренхиме мозга, более низкий — в гипофизе, паращитовидной и поджелудочной железах, репродуктивных органах, мочевом пузыре, кишечнике, скелетных мышцах и внутреннем ухе [7].

Большинство работ, описывающих функции klotho, посвящено исследованиям роли данного белка в механизмах подавления различной возрастной патологии нервной, сосудистой и почечной систем [8–9]. Что касается его влияния на старение фибробластов, то в экспериментах *in vitro* показано, что при повреждении ДНК klotho способствует замедлению клеточного старения в первичных клетках фибробласта человека MRC-5 через апоптотический путь (p53/21-зависимый) [10].

2-гидрокси-dATP-дифосфатаза (МТН-1) является ферментом и у человека кодируется геном *NUDT-1*. Данный фермент участвует в процессах репарации ДНК путем гидролиза окисленных пуринов, таким образом не давая им встроиться в цепочку ДНК. В результате этого МТН-1 играет важную роль в процессах старения и злокачественных новообразований [11].

В настоящее время работы, изучающие МТН-1 как маркер старения, немногочисленны. Так как функцией данного фермента является гидролиз окисленных пуринов, то он принимает непосредственное участие в регуляции старения через активные формы кислорода (АФК). Именно этому и посвящено большинство научных трудов в этой области.

Yoshimura D. и соавт., [12] показали на культуре фибробластов человека, что МТН-1 способен восстанавливать повреждения ДНК вызванное H_2O_2 . Priyamvada R. и соавт., [13] также провели опыт на культуре фибробластов. Эксперимент заключался в том, что блокировалась экспрессия гена 2-гидрокси-dATP-дифосфатазы, в результате чего значительно возрастали повреждения от АФК и ускорялся процесс клеточного старения. Оба этих эксперимента свидетельствуют о важности МТН-1 в замедлении старения.

Позднее De Luca G и соавт., [14] исследовали генномодифицированных мышей, которые сверхэкспрессировали МТН-1. По сравнению с животными дикого типа, МТН-1-сверхэкспрессирующие мыши имели значительно более низкие базовые уровни 8-оксогуанина как в ядерной, так и в митохондриальной ДНК нескольких органов, включая мозг. В результате продолжительность жизни модифицированных мышей достоверно повышалась в сравнении с мышами дикого типа.

Коллаген — основной структурный белок межклеточного матрикса. Наиболее значимым из них

в коже является коллаген I типа, кодируемый геном *COL1*. Коллагеновые волокна обеспечивают, в первую очередь, механическую прочность дермы. Кроме того, они участвуют в определении и поддержании архитектоники соединительной ткани кожи [15]. При хронологическом и индуцированном УФ-облучением (УФО) старении кожи наблюдается снижение количества коллагеновых волокон в дерме и образование ковалентных связей между ними. Снижение содержания коллагена в стареющей коже, подвергнутой УФО, связано с подавлением экспрессии гена коллагена через транскрипционный фактор AP-1. Содержание последнего повышается в клетках дермы при УФО, а также при усилении деградации волокон за счет повышения активности ММП, индуцированных средними и длинными УФ-волнами [16]. Ковалентное связывание коллагеновых фибрилл провоцируют свободные радикалы, продукция которых усиливается при УФО. Период полувыведения коллагена занимает около 14 лет, что создает предпосылки для накопления волокон, измененных вследствие образования перекрестных сшивок из-за действия сахаров или свободных радикалов. Этот сшитый коллаген не может быть эффективно разрушен и удален полностью матриксными металлопротеиназами, его фрагменты не могут быть восстановлены и включены в формирование новых волокон. «Сшитый» коллаген не только менее эластичен по сравнению с нормальным, но и плохо связывает воду, что способствует дегидратации дермы [16, 17].

Эластин. Эластические волокна образуют обширную тонкую сеть в дерме, содержат до 90% эластина. Из-за своей высокой гидрофобности и сшитой структуры эластин нерастворим, обладает высокой устойчивостью к протеолитической деградации и практически не имеет оборота в здоровых тканях [18].

Изменение эластиновых волокон наиболее характерно для фотостарения кожи. Классическим признаком при этом является эластоз — появление скоплений аморфного эластинового материала. Помимо лучей солнца, на эластиновые волокна могут влиять изменения в функционировании нервной, эндокринной и иммунной систем, обмене веществ. Так, эстрогены способствуют поддержанию упругости и эластичности кожи, стимулируя синтез фибробластами коллагеновых, эластиновых волокон и гиалуроновой кислоты. Резкое снижение уровня эстрогенов у женщин в период менопаузы приводит к дегидратации кожного покрова и образованию морщин. Вместе с этим, при старении происходит увеличение выработки противовоспалительных цитокинов, которые вызывают воспалительные изменения, сопровождающиеся деградацией коллагена, эластина и других структурных элементов кожи [19].

М. Huertas и соавт. исследовали активность ферментов, расщепляющих эластин. Выявлена корреля-

ция между скоростью гидролиза эластина с возрастом обследуемых. Так, образцы эластина доноров старше 70 лет растворялись в течении 24 ч, в то время как эластин доноров 6-летнего возраста растворялся в 2 раза дольше. Подобный результат авторы объясняли тем, что с возрастом меняется конформация эластиновых волокон. В результате этого повышается их сродство к ферменту. Установлено, что солнечная радиация также способствует работе ферментов, расщепляющих эластин [20].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование состояло из 2 частей:

1. *In vivo*. Материалом исследования послужили биоптаты кожи лица 4 пациенток после курсов терапии препаратами Novacutan YBio и SBio различной длительности. Выделены следующие группы:

- К – контроль (отсутствие процедур);
- МЛ – аблационная лазерная омолаживающая процедура (лазерная шлифовка кожи);
- КТ – комбинированная терапия (Novacutan + лазер. шлифовка);
- МН – монотерапия Novacutan.

Процедура лазерной шлифовки проведена аппаратом Fraxel re:store DUAL. Инъекции препарата Novacutan были выполнены кратковременным и долгосрочным курсами, длительность курсов составила 2 процедуры, интервал между процедурами – 1 нед и 3 процедуры – через 2 нед соответственно. Препарат вводился субдермально микроболюсно (0,01–0,02 мл) под углом 90° к поверхности кожи в объеме 2 мл за процедуру. У всех пациентов получено добровольное информированное согласие.

2. *In vitro*. Исследование выполнялось на смешанной культуре клеток фибробластов и кератиноцитов человека, выделенной из образца кожи взрослого человека, полученной в результате операции круговой подтяжки лица (женщина, 1973 г.р.). Для оценки особенностей экспрессии маркеров при старении культивирование проводилось до 2-го («молодые» клетки) и 6-го («старые» клетки) пассажей. Препарат вводили, начиная с 1-го пассажа (доза – 2,0 мл препарата, разведенного физиологическим раствором до 10,0 мл, по 1 мл вводили в ростовую среду). Препарат вводили при каждом пассаже (до 6-го).

При иммуногистохимии использовали следующие первичные моноклональные антитела: collagen type I (1:150, Abcam), elastin (1:50, Abcam), AP-1 (1:200, Sigma), Klotho (1:250, Abcam), MTH-1 (1:1000, Abcam). Для флуоресцентной микроскопии использовались вторичные антитела, конъюгированные с Alexa Fluor 647 (1:1000, Abcam), для световой микроскопии набор Mouse and Rabbit Specific HRP Detection IHC Kit (Abcam). Конфокальная микроскопия выполнялась на микроскопе Olympus FV 1000 (Япония).

Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое

исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических Videotest Morphology 5.2. Рассчитывалась относительная площадь экспрессии маркеров, по методике, описанной в [21].

Статистическая обработка экспериментальных данных включала подсчет среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала для каждой выборки. Сравнение групп производили с применением U-критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность коротких и длинных курсов Novacutan YBio и SBio, результаты исследования *in vivo*

Согласно полученным данным, экспрессия Coll I значительно снижается с возрастом. Так, в группе контроля у более молодых пациенток уровень коллагена в коже составил $7,35 \pm 0,37\%$ по сравнению с $4,95 \pm 0,44\%$ у пациенток более старшего возраста.

При проведении эксперимента с препаратом Novacutan YBio в группе молодого возраста, показано повышение экспрессии коллагена I типа в группах с лазерной шлифовкой (на 42%) и комбинированной терапией (на 57%), а также с монотерапией Novacutan при длительном курсе (на 29%) (рис. 1). Наибольший уровень экспрессии коллагена I типа зафиксирован в группе с применением комбинированной терапии (лазерной шлифовки и курсов Novacutan), где относительная площадь экспрессии составляла $12 \pm 0,62\%$ для пациента №4 соответственно.

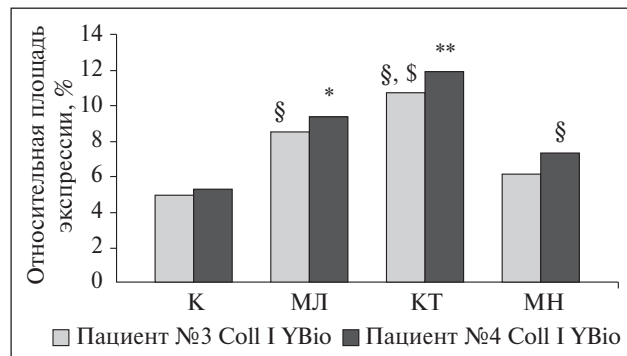


Рис. 1. Сравнение показателей относительной площади экспрессии Coll I у пациенток, проходящих лечение при применении препарата YBio. Кратковременный курс (пациент 3). Длительный курс (пациент 4).

Примечание. § – отличие от контрольной группы;

§ – отличие группы с КТ от всех остальных групп;

* – отличие от пациента №3 в группе МЛ;

** – отличие от пациента №3 в группе КТ.

Fig. 1. Comparison of the relative area of Coll I expression in patients treated with YBio. Short course (patient 3). Long course (patient 4).

Note. § – difference from the control group; § – difference of the group with CT from all other groups; * – difference from patient №3 in the ML group; ** – the difference from patient №3 in CT.

При проведении статистического анализа результатов морфометрического исследования экспрессии коллагена в биоптатах кожи пациенток (рис. 2) с применением препарата Novacutan SBio показано, что наибольшее увеличение относительной площади экспрессии маркера коллагена I типа в дерме наблюдалось при применении комплексной терапии,

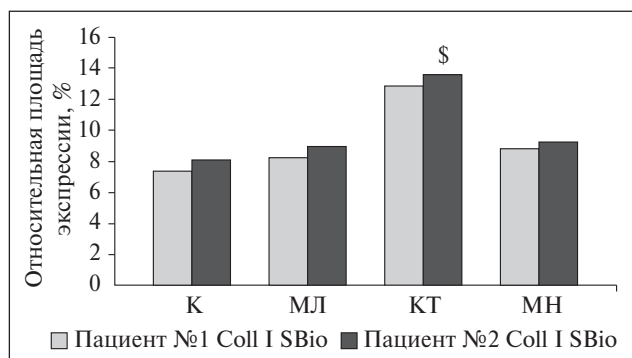


Рис. 2. Сравнение показателей относительной площади экспрессии Coll I у пациенток, проходящих лечение при помощи препарата SBio. Кратковременный (пациент №1) и длительный курсы (пациент №2)

Примечание. [§] – в отличие группы комбинированной терапии от остальных групп.

Fig. 2. Comparison of the relative area of Coll I expression in patients treated with SBio. Short-term (patient 1) and long-term courses (patient 2)

Note. [§] – difference between the combination therapy group and other groups.

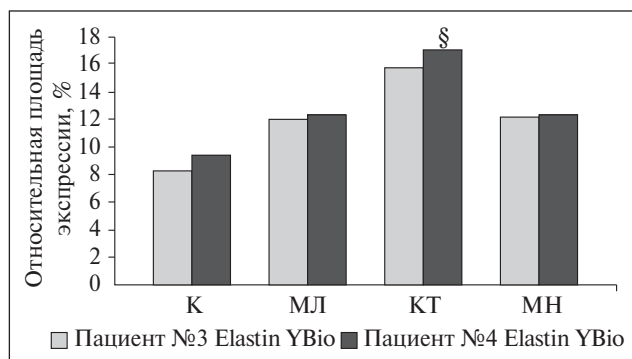


Рис. 3. Сравнение показателей относительной площади экспрессии Elastin у пациенток, проходящих лечение при помощи препарата YBio. Кратковременный курс (пациент 1) и длительный курс (пациент 2)

Примечание. [§] – отличие группы комбинированной терапии от остальных групп; * – отличие от пациента №3 в группе КТ.

Fig. 3. Comparison of the relative area of Elastin expression in patients treated with YBio. Short course (patient 1) and long course (patient 2)

Note. [§] – difference of the combination therapy group from other groups; * – difference from patient №3 in the CT group).

где она составляла $12,77 \pm 0,52\%$ для пациента №1 и $13,56 \pm 0,49\%$ для пациента №2 и была статистически достоверно выше по сравнению с другими группами. В остальных группах статистически достоверных отличий от контрольной группы или между группами не выявлено.

При сравнении эффекта длительности процедур на экспрессию коллагена показано, что в группе монотерапии лазером и комбинированной терапии более эффективными были длительные курсы.

Выявлено увеличение относительной площади экспрессии Elastin в молодой возрастной группе при применении препарата YBio путем использования комбинированной терапии лазерной шлифовкой с Novacutan на 8% при длительном курсе по сравнению с кратковременным (рис. 3).

Наибольший уровень экспрессии эластина наблюдался в группе комбинированной терапии, он был статистически достоверно больше по сравнению со значениями в контрольной группе.

Согласно полученным результатам, экспрессия Elastin значительно снижается с возрастом. Обнаружено увеличение относительной площади экспрессии Elastin в зрелой возрастной группе при проведении длительного курса лазерной шлифовки на 8,2%, комбинированной терапии лазерной шлифовкой с Novacutan SBio – на 16,4% и монотерапии Novacutan SBio – на 10% в сравнении с кратковременным применением указанных методов (рис. 4).

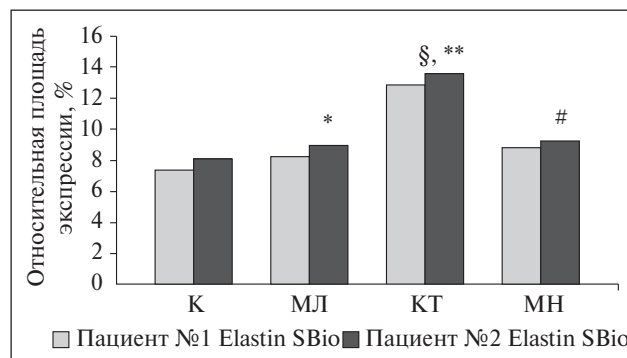


Рис. 4. Сравнение показателей относительной площади экспрессии Elastin у пациенток, проходящих лечение при помощи препарата SBio. Кратковременный курс (пациент 1) и длительный курс (пациент 2)

Примечание. [§] – отличие группы КТ от контроля;

* – отличие от пациента №1 в группе МЛ;

** – отличие от пациента №1 в группе КТ;

– отличие от пациента №1 в группе МН.

Fig. 4. Comparison of the relative area of Elastin expression in patients undergoing treatment with SBio. Short course (patient 1) and long course (patient 2)

Note. [§] – the difference between the CT group and the control;

* – difference from patient №1 in the ML group;

** – difference from patient №1 in the CT group;

– difference from patient №1 in the MN group

Результаты исследования *in vitro* геропротективных свойств Novacutan

Вторым этапом исследования было тестирование геропротективных свойств новых препаратов Novacutan YBio и SBio на смешанной культуре фибробластов и кератиноцитов человека. Установлено статистическое достоверное уменьшение средней площади экспрессии Elastin в контрольных образцах «старых» клеточных культур в сравнении с «молодыми» клеточными культурами в 0,86 раза.

Экспрессия Elastin в образцах «молодых» клеточных культур при применении препаратов Novacutan YBio и Novacutan SBio превысила таковую в контрольных образцах соответственно в 0,17 и 0,26 раза. Также наблюдалось достоверное снижение площади экспрессии Elastin для образцов «старых» клеточных культур при применении препаратов Novacutan YBio и Novacutan SBio в сравнении с контрольными образцами соответственно в 0,14 и 0,19 раза (рис. 5).

Под воздействием Novacutan YBio и SBio в совместной культуре фибробластов и кератиноцитов кожи человека происходит активация синтетической активности элакто, о чем свидетельствует усиление экспрессии эластина как в «молодой», так и в «старой» культуре.

Установлено статистически достоверное повышение средней площади экспрессии AP-1 в контроль-

ных образцах «старых» клеточных культур в сравнении с «молодыми» клеточными культурами, тогда как в экспериментальных группах при старении культуры наблюдается снижение экспрессии маркера AP-1 при применении препаратов Novacutan YBio в 0,2 раза и Novacutan SBio в 0,24 раза по сравнению с контрольной группой (рис. 6).

Установлено статистическое достоверное уменьшение средней площади экспрессии МТН-1 в контрольных образцах «старых» клеточных культур в сравнении с «молодыми» клеточными культурами в 0,42 раз.

Также наблюдалось достоверное увеличение площади экспрессии МТН-1 для образцов «старых» клеточных культур при применении препаратов Novacutan Y и Novacutan S в сравнении с контрольными образцами в 0,1 и 0,11 раз соответственно (рис. 7). Увеличение показателя МТН-1 в «старых» культурах свидетельствует об активизации процессов защиты от активных форм кислорода, накапливающихся по мере старения под действием компонентов Novacutan Y и S.

Установлено статистическое достоверное увеличение средней площади экспрессии Klotho в «старых» клеточных культурах при применении препаратов Novacutan YBio и Novacutan SBio в сравнении с контрольным образцом соответственно

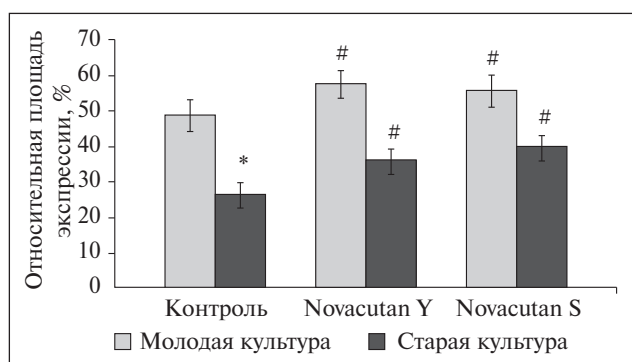


Рис. 5. Сравнение показателей относительной площади экспрессии маркера Elastin в исследуемых образцах клеточных культур

Примечание. * – статистически достоверное отличие контрольных образцов «старых культур» от контрольных образцов «молодых культур»; # – статистически достоверное отличие экспериментальной группы от группы контроля в соответствующей возрастной категории клеточной культуры.

Fig. 5. Comparison of the indicators of the relative area of expression of the marker Elastin in the studied samples of cell cultures.

Note. * – statistically significant difference between the control samples of «old cultures» from the control samples of «young cultures»; # – statistically significant difference between the experimental group and the control group in the corresponding age category of cell culture.

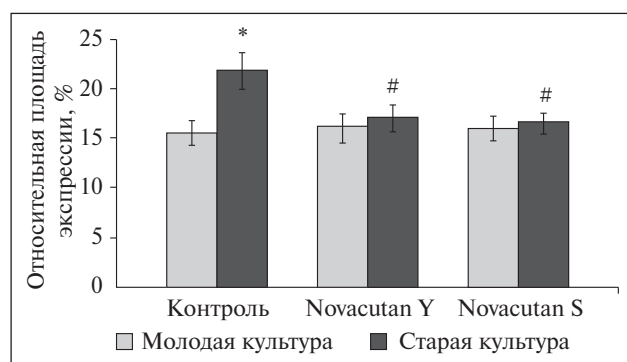


Рис. 6. Сравнение показателей относительной площади экспрессии маркера AP-1 в исследуемых клеточных культурах кожи человека

Примечание. * – статистически достоверное отличие контрольных образцов «старых культур» от контрольных образцов «молодых культур»; # – статистически достоверное отличие экспериментальной группы от группы контроля в соответствующей возрастной категории клеточной культуры.

Fig. 6. Comparison of the indicators of the relative area of expression of the marker AP-1 in the studied cell cultures of human skin

Note. * – statistically significant difference between the control samples of «old cultures» from the control samples of «young cultures»; # – statistically significant difference between the experimental group and the control group in the corresponding age category of cell culture.

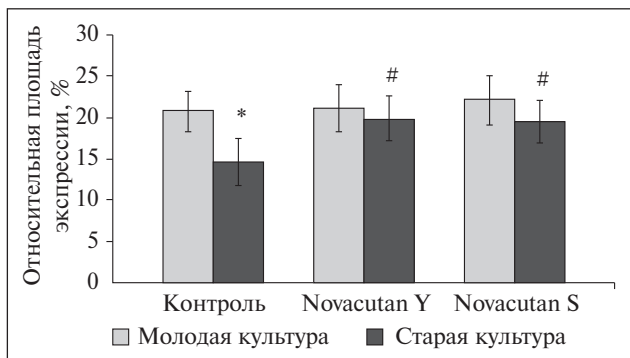


Рис. 7. Сравнение показателей относительной площади экспрессии маркера MTH-1 в исследуемых клеточных культурах кожи человека

Примечание. * – статистически достоверное отличие контрольных образцов «старых культур» от контрольных образцов «молодых культур»; # – статистически достоверное отличие экспериментальной группы от группы контроля в соответствующей возрастной категории клеточной культуры.

Fig. 7. Comparison of indicators of the relative area of expression of the marker MTH-1 in the studied cell cultures of human skin

Note. * – statistically significant difference between the control samples of «old cultures» from the control samples of «young cultures»; # – statistically significant difference between the experimental group and the control group in the corresponding age category of cell culture.

в 0,72 и 0,73 раза (рис. 8). Увеличение экспрессии Klotho под воздействием препаратов Novacutan Y и S, свидетельствует о повышении устойчивости к оксидативному стрессу, что особенно важно при профилактике старения, а также при воздействии УФ-излучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам изложенного сделаны следующие выводы:

1. При применении препарата Novacutan YBio наибольший уровень экспрессии эластина наблюдался при комбинированной терапии, а длительный курс стимулировал выработку эластина лучше, чем короткий.

2. Показано значительное увеличение экспрессии коллагена I типа при применении препарата Novacutan SBio в комбинированной терапии с лазерной шлифовкой у возрастных женщин.

3. При кратковременном курсе на экспрессию коллагена I типа наибольший эффект оказывает комбинированная терапия Novacutan SBio, на экспрес-

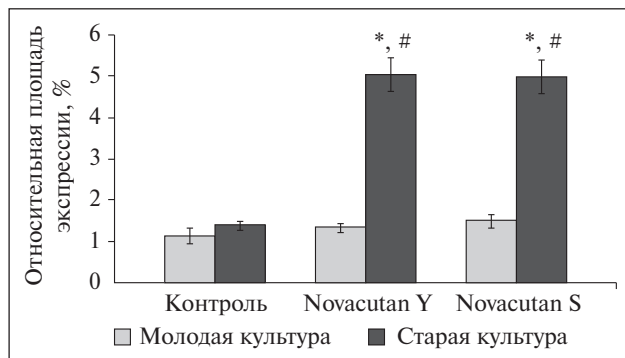


Рис. 8. Сравнение показателей относительной площади экспрессии маркера Klotho в исследуемых клеточных культурах кожи человека

Примечание. * – статистически достоверное отличие контрольных образцов «старых культур» от контрольных образцов «молодых культур»; # – статистически достоверное отличие экспериментальной группы от группы контроля в соответствующей возрастной категории клеточной культуры.

Fig. 8. Comparison of the relative area of expression of the Klotho marker in the investigated human skin cell cultures

Note. * – statistically significant difference between the control samples of «old cultures» from the control samples of «young cultures»; # – statistically significant difference between the experimental group and the control group in the corresponding age category of cell culture.

сию эластина комбинированная терапия с Novacutan YBio.

4. Наиболее значимые различия наблюдались для маркера Klotho, его экспрессия значительно увеличивалась в «старых» клеточных культурах при воздействии как Novacutan YBio, так и Novacutan SBio.

5. Единственным маркером, имеющим более высокую экспрессию при старении клеточных культур, был AP-1. При воздействии же на культуры препаратами Novacutan YBio и SBio экспрессия данного маркера статистически значимо снижалась.

Таким образом, проведенные исследования позволяют рассматривать Novacutan как препарат, обладающий выраженными общерегуляторными и дерматогеропротективными свойствами.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Vademecum впервые подсчитал объем рынка «уколов красоты». VADEMECUM. 2017; 03. <https://vademec.ru/projects/magazines/2017/03/> (Vademecum впервые подсчитал объем рынка "ukolov krasoty" VADEMECUM.2017; 03 (in Russian))
- Hess J., Angel P., Schorpp-Kistner M. AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings. *J. of Cell Science*. 2004; 117 (25): 5965–73.
- База знаний по биологии человека. Онкогенетика. AP-1 транскрипционный фактор: общие сведения. Дата обращения: 01.10.2020 URL: <http://humbio.ru/humbio/oncogenetics/000b3f5f.htm> (База знаний по биологии человека. Онкогенетика. AP-1 транскрипционный фактор: общие сведения. Дата обращения: 01.10.2020 (in Russian))
- Qin Z., Robichaud P., He T., Fisher G.J., Voorhees J.J., Quan T. Oxidant exposure induces cysteine-rich protein 61 (CCN1) via c-Jun/AP-1 to reduce collagen expression in human dermal fibroblasts. *PLoS One*. 2014; 9 (12): e115402. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115402>
- Hwang K.A., Yi B.R., Choi K.C. Molecular mechanisms and *in vivo* mouse models of skin aging associated with dermal matrix alterations. *Send to Lab Anim. Res*. 2011; 27 (1): 1–8.
- Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H., Kawaguchi H., Suga T., Utsugi T., Ohshima Y., Kurobayashi M., Kaname T., Kume E., Iwasaki H., Iida A. «Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing». *Nature*. 1997; 390 (6655): 45–51.
- Бокша И.С., Прохорова Т.А., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б. *Биохимия*. 2017; 82 (9): 1278–95. (Boksha I.S., T.A. Prohorova, O.K. Savushkina, E.B. Tereshkina. *Biochemistry*. 2017; 82 (9): 1278–95 (in Russian))
- Koyama D., Sato Y., Aizawa M., Maki T., Kurosawa M., Kuro-o M., Furukawa Y. Soluble αKlotho as a candidate for the biomarker of aging. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015; 467 (4): 1019–25. <https://doi.org/10.18632/aging.102771>
- Dalton G.D., Xie J., An S.W., Huang C.L. New Insights into the Mechanism of Action of Soluble Klotho. *Front Endocrinol*. 2017; 17 (8): 323.
- Sopjani M., Rinnerthaler M., Kruja J., Dermaku-Sopjani M. Intracellular signaling of the aging suppressor protein Klotho. *Curr Mol Med*. 2015; 15 (1): 27–37.
- Sakumi K., Furuichi M., Tsuzuki T., Kakuma T., Kawabata S., Maki H., Sekiguchi M. Cloning and expression of cDNA for a human enzyme that hydrolyzes 8-oxo-dGTP, a mutagenic substrate for DNA synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*. 1993; 268 (31): 23524–30.
- Yoshimura D., Sakumi K., Ohno M., Sakai Y., Furuichi M., Iwai S., Nakabeppu Y. An oxidized purine nucleoside triphosphatase, MTH1, suppresses cell death caused by oxidative stress. *J. Biol Chem*. 2003; 278 (39): 37965–73.
- Rai P., Onder T., Young J. J., McFaline J.L., Pang B. Continuous elimination of oxidized nucleotides is necessary to prevent rapid onset of cellular senescence. *Send to Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106 (1): 169–74.
- De Luca G., Ventura I., Sanghez V., Russo M.T., Ajmone-Cat M.A. Prolonged lifespan with enhanced exploratory behavior in mice overexpressing the oxidized nucleoside triphosphatase hMTH1. *Aging Cell*. 2013; 12 (4): 695–705.
- Avila Rodriguez M.I., Rodriguez Barroso L.G., Sánchez M.L. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J Cosmet Dermatol*. 2018; 17 (1): 20–6. <https://doi.org/10.1111/jocd.12450>.
- Zhang M., Hwang E., Lin P., Gao W., Ngo H.T.T., Yi T.H. *Prunella vulgaris* L. Exerts a Protective Effect Against Extrinsic Aging Through NF-κB, mapks, AP-1, and TGF-β/Smad Signaling Pathways in UVB-Aged Normal Human Dermal Fibroblasts. *Rejuvenation Res*. 2018; 21 (4): 313–22. <https://doi.org/10.1089/rej.2017.1971>
- Смирнова И.О. Фотостарение кожи и базально-клеточный рак: роль тучных клеток. *Клиническая медицина*. 2005; 83 (7): 55–8. (Smirnova I.O. Skin photoaging and basal cell carcinoma: role of mast cells. *Klinicheskajamedicina*. 2005; 83 (7): 55–8 (in Russian))
- Целуйко С.С., Малюк Е.А., Корнеева Л.С., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика дермы кожи и ее изменения при старении (обзор литературы). *Бюллетень*. 2016; 60: 111–6. (Celujko S.C., Maljuk E.A., Korneeva L.S., Krasavina N.P. Morphofunctional characteristics of skin derma and its changing during aging (literature review) . *Bulleten'*. 2016; 60: 111–6 (in Russian))
- Zhang S., Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside. *Cell Transplant*. 2018; 27 (5): 729–38. <https://doi.org/10.1177/0963689717725755>.
- Mora Huertas A.C., Schmelzer C.E., Hoehenwarter W., Heyroth F., Heinz A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie*. 2016; 128–129: 163–73. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.08.010>.
- Газитаева З.А., Дробинцева А.О., Чанг Й, Полякова В.О., Кветной И.М. Молекулярные механизмы дермального геропротективного действия препаратов на основе биомиметических пептидов. *Молекулярная медицина*. 2015; 5: 16–9. (Gazitaeva Z.A., Drobintseva A.O., CHang J, Polyakova V.O., Kvetnoj I.M. Molecular mechanisms dermal geroprotector action preparations consisting of biomimetical peptides. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015; 5: 16–9 (in Russian))

Поступила 23 декабря 2020 г.

Для цитирования: Газитаева З.И., Дробинцева А.О., Полякова В.О., Кветной И.М., Прокопов А.Ю. Препараты линейки Novacutan как потенциальные дерматогеропротективы: молекулярно-микроскопическое исследование. *Молекулярная медицина*. 2021; 19 (4): 34–41. <https://doi.org/10.29296/24999490-2021-04-06>

For citation: Gazitaeva Z.I., Drobintseva A.O., Polyakova V.O., Kvetnoj I.M., Prokopov A.Yu. Novacutan preparations as potential dermatogero-protectors: molecular-microscopic study. *Molekulyarnaya meditsina*. 2021; 19 (4): 34–41 (in Russian). <https://doi.org/10.29296/24999490-2021-04-06>