



И.В. Лискина, Н.Н. Деркач, С.Д. Кузовкова

ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновского НАМН Украины», Киев

Сравнительное клинико-морфологическое исследование влияния на кожу двух препаратов на основе гиалуроновой кислоты

Ключевые слова

Старение кожи, дерма, гиалуроновая кислота, натрия сукцинат.

Старение кожи и ее возрастные изменения связаны со старением всего организма в целом. Понятие «старение кожи» включает два различных явления: истинное старение — универсальное, возможно, неизбежное, генетически запрограммированное изменение, связанное только со временем; и фотостарение — результат хронического, обычного облучения солнцем, которое не является универсальным и которое возможно частично регулировать [1–3, 6, 9]. В зарубежной литературе приняты термины «внутренние и внешние процессы старения», к внешним дополнительно относят влияние вредных привычек (курение, употребление алкоголя), характер питания [6, 9]. С возрастом прогрессирующее уменьшение содержания основных половых гормонов в плазме крови естественно приводит к снижению скорости деления клеток базального слоя эпидермиса, и тем самым — к нарушению равновесия процессов, связанных с формированием эпидермиса. Наиболее существенные негативные трансформации, связанные со временем, происходят в собственно дерме.

Сегодня известны следующие основные патогенетические механизмы старения кожи, затрагивающие преимущественно слой дермы [1, 6, 9]:

1. Нарушение оптимального водного баланса в результате уменьшения количества гиалуроновой кислоты (ГК) в коже и, соответственно, уменьшения ее способности удерживать воду.

Доказано, что снижение содержания количества воды в коже приводит к потере упругости и

появлению морщин. Водный баланс кожи обеспечивается двумя противоположно направленными пассивными физиологическими процессами: диффузией воды в дерму сквозь стенки сосудов и выпариванием ее сквозь роговой слой. В физиологическом состоянии кожи процесс удержания воды имеет огромное значение, причем ведущая роль принадлежит именно гиалуроновой кислоте. С возрастом содержание гиалуроновой кислоты стремительно уменьшается.

2. Угнетение ряда метаболических процессов в коже — клеточного дыхания, производства энергии (АТФ), ионного транспорта, а также синтеза основных структурных белков кожи — коллагена и эластина. Это приводит к нарушению восстановительных процессов в коже и ускоренному ее старению.

3. Накопление свободных радикалов в межклеточном веществе, которые повреждают клеточные мембраны и ДНК клеток, что приводит к повреждению и гибели последних, разрушению коллагеновых и эластиновых волокон, нарушению микроциркуляции как следствия собственно повреждения клеточных структур капиллярной сети, так и нарушенного транскапиллярного обмена веществ. Это приводит к ухудшению цвета лица и текстуры кожи, вызывает преждевременное старение.

В лечебной косметологии для уменьшения и/или устранения явлений старения кожи уже длительное время используют натуральные вещества, которые благодаря физико-химическому составу способны стимулировать восстанов-

ление гидратации кожи. Такими веществами являются препараты на основе ГК.

Метод восстановления и оптимизации качественных характеристик кожи, в частности межклеточного матрикса, путем проведения интрадермальных инъекций препаратов гиалуроновой кислоты известен в медицине уже около двадцати лет [2, 3, 5]. Сегодня препараты ГК стали базовыми в области эстетической медицины и основными терапевтическими средствами для омоложения кожи. Основной целью введения ГК в кожу является пополнение гидратационного резерва тканей, воссоздание в ней естественных условий для функционирования клеток и, таким образом, активации механизма ауторегуляции синтеза эндогенной нативной гиалуроновой кислоты и других компонентов внеклеточного матрикса дермы. При введении ГК в кожу происходит восстановление межклеточного вещества и таких его свойств, которые обеспечивают пластичность и тургор тканей, водного баланса в тканях, связывание и выведение токсинов и шлаков, обеспечение рецептор-опосредованной стимуляции клеток кожи, в том числе фибробластов, повышение эндогенного синтеза молекул ГК. В итоге запускается механизм ауторегуляции по принципу обратной связи: стимуляция дифференцировки мезенхимальных клеток в фибробласты фиброцитами, опосредованная стимуляция коллагено- и эластиногенеза, стимуляция ангиогенеза. Таким образом, ГК позволяет физиологическим путем максимально восстановить и простимулировать структуры кожи, длительное время подвергавшихся повреждающему воздействию вредных факторов на фоне постоянных процессов естественного (генетически запрограммированного) старения [2, 4].

Кроме того, существенное снижение естественного содержания в организме количества и качества ГК с возрастом подтверждает необходимость применения препаратов гиалуроновой кислоты для замещения и восполнения утраченных физико-биохимических свойств кожи [7]. Возможности использования ГК в дерматологии связаны с ее ролью в регуляции состояния внеклеточного основного вещества. Допускается, что это воздействие распространяется не только на дерму, но и на регуляцию процессов кератинизации [2, 3].

Как уже отмечалось, наряду с нарушением оптимального водного баланса большое значение в активизации процессов старения кожи имеют накопление свободных радикалов и угнетение ряда метаболических процессов, приводящих к гипосинтезу коллагена и эластина. Однако применение только ГК «в чистом виде» не может

повлиять на все многообразие существующих механизмов старения.

Поиск препаратов, воздействующих на все три основных механизма старения кожи, в последние годы способствовал росту исследований эффективности комбинированных препаратов гиалуроновой кислоты с естественными метаболитами. Поскольку одним из лучших корректоров энергетического обмена из всех биохимических составных цикла Кребса является натрия сукцинат, вполне логично, что первым комбинированным препаратом для эстетической медицины предложен Hualual («Гиалуаль»). В его основе лежит уникальная формула сочетания гиалуроновой кислоты с натрием сукцинатом (натриевая соль янтарной кислоты), благодаря чему становится возможным объективное воздействие на все основные патогенетические механизмы старения кожи и достигается мощный комплексный anti-age эффект [3, 5].

- Гиалуроновая кислота устраняет обезвоживание кожи за счет пополнения дефицита воды в тканях, а также стимулирует пролиферацию фибробластов, таким образом усиливая эндогенный синтез ГК. Это приводит к поддержке нормального уровня увлажнения кожи, нормализации ее тургора.

- Натрий сукцинат обеспечивает выраженные восстановительный и антиоксидантный эффекты, активно блокирует свободные радикалы, положительно влияет на метаболические процессы в коже — усиливает клеточное дыхание, нормализует ионный транспорт, белковый синтез, значительно стимулирует энергопродукцию (АТФ). Комплекс активированных физиологических механизмов определяет высокую эффективность этого вещества в восстановлении клеток, повышении упругости и эластичности кожи, ее тургора, улучшении цвета и текстуры лица, устранении признаков старения, усталости. Конечным результатом использования этого продукта является реализация комплексного высокоэффективного подхода к омоложению и замедлению процессов старения кожи [3].

Цель работы — объективно оценить эффекты воздействия препаратов ГК с натрием сукцинатом и без него путем сравнительного изучения морфологических изменений в биоптатах кожи в результате проведения лечебного курса каждым из препаратов.

Материалы и методы

В исследование было включено 5 пациенток женского пола в возрасте 28–50 лет. Все они дали добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Были изучены биоптаты исходного состояния кожи всех пациенток, без воздействия препаратов, а также биоптаты после курса инъекций монокомпонентного препарата ГК и препарата ГК с натрия сукцинатом.

В исследовании были использованы два инъекционных препарата:

- препарат ГК с натрия сукцинатом;
- монокомпонентный препарат ГК (зарубежный аналог).

Экспериментальная часть лечения заключалась во введении пациентам указанных препаратов в области внутренней поверхности плеча на разных руках, оба их вводили одновременно. Для исключения появления возможных артефактов, вызванных длительной регулярной травматизацией кожи, места экспериментального введения препаратов меняли (смещали по кругу). Кроме того, фотографировали проблемные зоны кожи до и после лечения.

Каждый препарат вводили на разных руках в участок кожи площадью 70×70 мм в области внутренней поверхности плеча. Оба препарата вводили в виде инъекций в одинаковой дозировке — 0,5 мл, с применением папульной техники. Частота — 1 введение в 2 нед, всего 5 инъекций (процедур) каждого из препаратов.

После окончания курса воздействия препаратами ГК с натрия сукцинатом и без него была выполнена биопсия кожи в зонах непосредственно воздействия. Время забора биопсии — через 10 дней после окончания курса лечения — последней инъекции (для дополнительного исключения последствий микротравматизации и проявления стойкого эффекта каждого препарата). С целью контроля фонового состояния кожи у каждой из этих женщин была выполнена биопсия кожи в области внутренней поверхности плеча, отступив на 50–70 мм от области эксперимента. Площадь каждого биопсийного кусочка кожи составляла примерно 5×3 мм.

Полученный гистологический материал был подвергнут стандартной фиксации в 10 % растворе формалина и последующей стандартной проводке в спиртовых растворах восходящей концентрации с заключением обезвоженных кусочков в парафиновые блоки.

Полученные препараты окрашены двумя следующими методами:

- традиционная окраска гематоксилин-эозином (для исследования общей структуры тканей);
- окраска по ван Гизону (для изучения состояния волокон соединительной ткани);

Полученные гистологические препараты изучали методом световой микроскопии на микро-

скопе Olympus BX51, микрофото получены с помощью фотокамеры Olympus SP-500 UZ.

Гистологические срезы каждой пациентки, окрашенные разными методами, описывали и анализировали в комплексе.

Эффективность воздействия каждого из лечебных препаратов на структуры кожи анализировали с учетом следующих показателей: общая структурированность дермы; структура и размеры коллагеновых волокон, эластических волокон, состояние придатков кожи (волос, потовых и сальных желез), кровеносных сосудов дермы, характеристика основного вещества.

Дополнительно учитывали некоторые клинические характеристики: субъективные ощущения пациенток, косметический эффект при внешнем осмотре, а также скорость заживления дефекта кожи после биопсии.

Результаты и обсуждение

Вначале проводили макроскопическую оценку состояния кожи в области инъекций препаратов до курса лечения и после.

Исходно у пациенток не было видимых признаков старения: сниженный тургор, дряблость, сухость кожи, участки повышенного шелушения, пигментные пятна; «сеть» мелких морщинок, более глубокие мимические морщины. Непосредственно в зонах эксперимента отмечали пониженный тургор, дряблость, сухость.

После завершения курса инъекций монокомпонентного препарата ГК в области введений отмечено увеличение упругости и эластичности кожи.

В области инъекций препарата ГК с натрия сукцинатом наблюдали общее более выраженное улучшение внешнего вида кожи вследствие также повышения ее тургора и эластичности, исчезновения сухости и улучшения цвета. Визуальные позитивные результаты применения препарата ГК с натрия сукцинатом больше были выражены у пациенток старшего возраста.

Кроме того, отмечено ускоренное заживление дефекта кожи в зоне забора биопсии после применения препарата ГК с натрия сукцинатом у всех 5 пациенток по сравнению с аналогичной зоной биопсий «до воздействия». При сравнении темпов заживления дефектов кожи в результате биопсий после воздействия препаратов ГК с натрия сукцинатом и без него отмечено более выраженное ускорение заживления в месте применения препарата ГК с натрия сукцинатом у 4 пациенток.

Нежелательных (аллергических) реакций в процессе применения как монокомпонентного препарата ГК, так и препарата ГК с натрия сукцинатом ни у кого из участниц исследования не наблюдали.

Структура эпидермиса практически не изменялась при сравнительной оценке до лечения и после введения препаратов. В качестве отдельного замечания можно отметить, что клеточный состав и строение эпидермального слоя кожи в наибольшей степени были обусловлены возрастом пациенток. Кроме того, в ходе выполнения гистологических срезов в некоторых случаях отмечали частичное слущивание поверхностного слоя (эпидермиса) или его утрату, что наиболее вероятно, можно объяснить техническими проблемами гистологической проводки или хирургическими сложностями получения адекватных биоптатов кожи во всех случаях.

Состояние придатков кожи (волос, потовых и сальных желез) также не продемонстрировало существенных изменений в результате курсов инъекций обоих препаратов ГК.

В ходе предварительной оценки влияния обоих препаратов на состояние кожи в полученных биоптатах было выяснено, что основной эффект наблюдается в дерме, причем применение как монокомпонентного препарата ГК, так и препарата ГК с натрия сукцинатом оказало сходное по характеру влияние на структуру дермы у участников исследования.

С целью объективизации и количественной оценки гистологической картины влияния курса обоих препаратов на состояние дермы была разработана специальная балльная схема, включающая основные исследуемые морфологические признаки по аналогии со схемами, используемыми в гистопатологии при полуколичественном анализе [8].

Схема для гистологической балльной оценки некоторых признаков состояния дермы

Структурированность поверхностного и глубокого слоев дермы

Структурированность поверхностного слоя:

1 — слабая, преобладают рыхловолокнистые, миксоматозные структуры;

2 — умеренная, с незначительными, диффузно представленными рыхловолокнистыми включениями;

3 — отчетливая структурированность, без миксоматозных изменений.

Структурированность глубокого слоя:

1 — слабая, преобладают рыхловолокнистые, миксоматозные структуры;

2 — умеренная, с незначительными, диффузно представленными рыхловолокнистыми включениями;

3 — отчетливая структурированность, без миксоматозных изменений.

Состояние и относительное количество коллагеновых волокон:

1 — слабо представлены, волокна относительно тонкие в диаметре;

2 — хорошо развиты по толщине, количественно преобладают в срезах;

3 — выраженное развитие, с явлениями функциональной гипертрофии части волокон, образуют четкие структуры.

Состояние и относительное количество эластических волокон:

1 — практически не представлены;

2 — в дерме определяются единичные, отдельно расположенные, волокна.

Состояние и выраженность элементов капиллярного русла:

1 — структуры капилляров практически не представлены;

2 — умеренное количество молодых капилляров.

Состояние основного вещества (по относительным признакам):*

0 — сниженный, уменьшенный объем;

1 — умеренный объем;

2 — увеличенный объем.

Анализ количества и представленности в биоптатах коллагеновых, эластических волокон, а также гладкомышечных структур был выполнен по срезам, окрашенным по ван Гизону.

Согласно предложенной схеме выполнена количественная оценка каждого наблюдения отдельно по эффекту действия каждого из препаратов. Результаты представлены в таблице.

Полученные результаты, как по каждому отдельному случаю, так и в совокупности, с учетом времени исследования, демонстрируют отчетливые количественные различия в общей оценке состояния дермы до лечения и после курса терапии: и традиционным монокомпонентным препаратом ГК, и новым препаратом ГК с натрия сукцинатом. Согласно полученным данным, диапазон отдельных сумм гистологической оценки состояния дермы до лечения составил 4–8 бал-

* Об объеме основного вещества судили по совокупности оптически свободных промежутков дермы между окрашенными структурами (волокнами) соединительной ткани при одном и том же микроскопическом увеличении.

Таблиця. Результати суммарної оцінки стану шкіри за запропонованою схемою гистологічних змін

Показатель	Общее состояние дермы отдельных случаев, сумма баллов					Общая сумма баллов
	1	2	3	4	5	
До лечения	4	6	7	8	7	32
После курса введений препарата ГК	8	11	8	9	8	44
После курса введений препарата ГК с сукцинатом натрия	11	13	12	11	12	59

лов, после курса введения монокомпонентного препарата ГК — 8–11 баллов и соответственно после курса введения препарата ГК с натрия сукцинатом — 11–13 баллов.

Предложенный подход дал также возможность объективизировать оценку раздельного эффекта на структуры дермы каждого из препаратов, а также количественно сопоставить и сравнить уровни эффективности используемых препаратов.

Монокомпонентный препарат ГК, по результатам исследования, вызывает общее умеренное увеличение структурированности дермы, преимущественно в результате умеренного разрастания и пространственной организации коллагеновых волокон, очевидной пролиферации со стороны эластических волокон не обнаружено (рис. 1). Не отмечено достоверного исчезновения участков с рыхлыми структурами соединительной ткани в дерме. В единичном случае отмечено появление вновь образованных капилляров после курса введения этого препарата. Умеренный положительный эффект нашел отражение в раздельной и общей суммарной оценке состояния дермы после его применения: конечный диапазон сумм составил 8–11 баллов по сравнению с исходным уровнем в 4–8 баллов, а по общей сумме — 44 балла по сравнению с 32. Тем не менее, как показывает балльная

оценка, существует определенная зона «перекрытия» в оценке эффекта воздействия монокомпонентного препарата ГК с исходной оценкой состояния кожи до лечения по отдельным случаям, что, собственно, свидетельствует об отсутствии его статистически достоверного выраженного эффекта.

Препарат ГК с натрия сукцинатом, согласно полученным результатам, способствует существенному росту общей структурированности дермы — в результате как умеренного или выраженного разрастания и пространственной организации коллагеновых волокон, отчасти их функциональной гипертрофии, так и явлений умеренной пролиферации эластических волокон в составе дермы. После курса введения препарата в дерме практически не выявляли участков разрыхления и/или некробиоза. Отмечены умеренные явления ангиогенеза — формирования молодых капилляров в дерме (рис. 2). Выраженный положительный эффект этого препарата нашел отражение и в раздельной суммарной оценке состояния дермы после его применения: конечный диапазон сумм составил 11–13 баллов по сравнению с исходным уровнем в 4–8 баллов, а общие суммы равнялись соответственно 59 и 32 баллам, что свидетельствует о статистически значимом эффекте. Кроме того, отмечен более

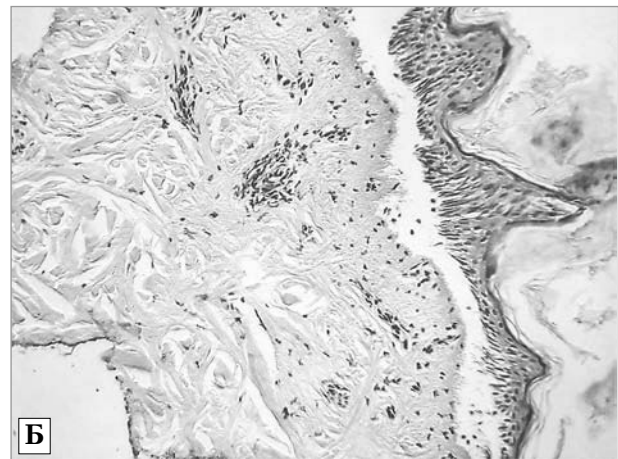
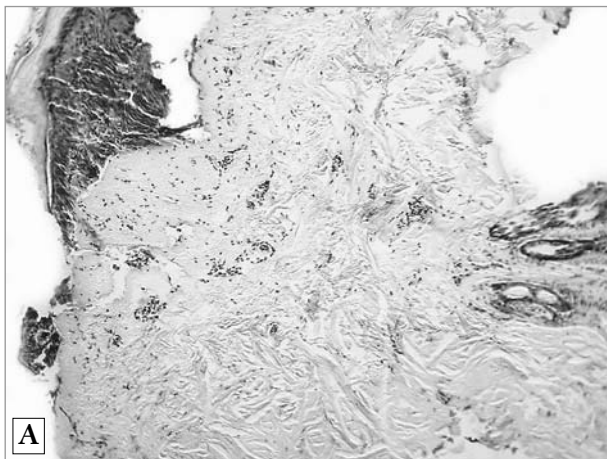


Рис. 1. Биоптат кожи до начала лечения (А) и после курса инъекций препарата ГК без сукцината натрия (Б) Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200

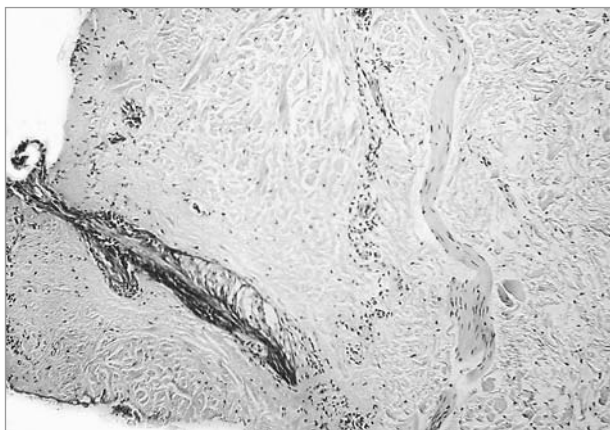


Рис. 2. Биоптат кожи после курса инъекций препарата ГК с сукцинатом натрия
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200

высокий суммарный эффект препарата ГК с натрия сукцинатом в сравнении с монокомпонентным препаратом ГК на структуры дермы: 59 и 44 балла соответственно.

Выводы

Положительный макроскопический эффект на состояние кожи, или косметический эффект,

наблюдается в результате инъекционного курса как монокомпонентного препарата ГК, так и препарата ГК с натрия сукцинатом и проявляется, главным образом, в повышении упругости и эластичности кожи. В области инъекций препарата ГК с натрия сукцинатом отмечено общее более выраженное улучшение внешнего вида кожи вследствие как значительного повышения упругости и эластичности кожи, так и исчезновения сухости и шелушения, улучшения цвета.

Исследование показало, что препарат ГК с натрия сукцинатом оказывает более заметный положительный эффект в сравнении с монокомпонентным препаратом ГК. У всех без исключения пациентов полуколичественный гистологический анализ биоптатов кожи подтвердил более активное влияние препарата ГК с натрия сукцинатом на структуры дермы и капиллярную сеть кожи (выявлен эффект редермализации).

Препарат ГК с натрия сукцинатом имеет в целом высокую эффективность и может быть рекомендован широкому кругу пациентов благодаря универсальному действию на кожу и ее структуры.

Список литературы

1. Калюжная Л.Д., Дзюба В.Е. Старение кожи: патогенетические, клинические и лечебные аспекты // Укр. мед. часопис.— 2002.— № 2 (28).— С. 68–72.
2. Калюжна Л.Д., Шармазан С.І. Гіалуронова та янтарна кислоти проти старіння шкіри // Нувель Естетік.— 2009.— № 5 (57).— С. 42–43.
3. Калюжная Л.Д., Шармазан С.И., Моисеева Е.В., Бондаренко И.Н. Место гиалуроновой кислоты в проблеме старения кожи // Естетична медицина.— 2009.— № 4 (10).— С. 58–60.
4. Коркунда С.В., Григорьева Т.Г. Патогенетические аспекты медикаментозного обеспечения в пластической хирургии // Харківська хірургічна школа.— 2010.— № 1 (39).— С. 37–41.
5. Линник Л.П., Деркач Н.Н. Новые подходы к созданию инъекционных средств для редермализации и эффективность применения препарата Hualual (Гиалуаль) // Пластична та реконструктивна хірургія.— 2010.— № 1 (XIV).— С. 37–44.
6. Baumann L. Skin ageing and its treatment // J. Pathol.— 2007.— Vol. 211.— P. 241–251.
7. Dangoisse C. Dermo-cosmetics and prevention of skin aging // Rev. Med. Brux.— 2004.— Vol. 25, N 4.— A 365–370.
8. Krenn V., Morawietz L., Burmester G.-R. et al. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis // Histopathology.— 2006.— Vol. 49.— P. 358–364.
9. Puizina-Ivic N. Skin aging // Acta Dermatoven. APA.— 2008.— Vol. 17, N 2.— P. 47–54.

І.В. Лісіна, Н.М. Деркач, С.Д. Кузовкова

Порівняльне клініко-морфологічне дослідження впливу на шкіру двох препаратів на основі гіалуронової кислоти

Стаття присвячена дослідженню впливу на шкіру двох ін'єкційних препаратів гіалуронової кислоти з натрію сукцинатом та без нього. Наведено опис макроскопічних змін шкіри та морфологічних показників, які суттєво змінювалися після курсу ін'єкцій зазначених препаратів, виконано кількісний аналіз таких змін. Вплив кожного із застосованих препаратів вивчено окремо та в порівнянні. З'ясовано, що основні позитивні зміни спостерігалися саме в дермі у разі використання обох препаратів, але виразніший характер мали в пацієнтів, яким було призначено препарат ГК з натрію сукцинатом.

I.V. Liskina, N.H. Derkach, S.D. Kuzovkova

Comparative clinical and morphological investigation of influence on skin of two remedies on the base of hyaluronic acid

The article is devoted to investigation of influence on skin of two injective remedies of hyaluronic acid with and without sodium succinate. The description of macroscopic changes of the skin and morphological parameters, which essentially changed after course of injections of the indicated remedies and quantification of this changes are showed. The influence each of used remedy was studied separately and in comparing. It's was established that the main positive changes were observed in dermis due to usage of both remedies, but more apparent character its have using hyaluronic acid with sodium succinate.