

Кудревич Ю.В., Сычугов Г.В., Зиганшин О.Р., Заяц Т.А.

## Изменения структурных показателей кожи при воздействии биоревитализации

ГОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск

Kudrevich Ju.V., Sychugov G.V., Ziganshin O.R., Zayatz T.A.

### Changes structural indicators of the skin and effects biorevitalization

#### Резюме

Цель: исследование влияния биоревитализации на состояние кожного покрова. Использован препарат, в состав которого входят гиалуроновая кислота и трегалоза. В исследовании принимали участие 20 женщин, средний возраст -  $52 \pm 7,54$  года. Воздействию препаратом подвергалась кожа лица, шеи и заушной области справа. До процедуры и через 1,5 месяца после производилась биопсия кожи в заушной области методом punch-биопсии. В биопсийном материале исследовались: толщина эпидермиса, сосочкового и сетчатого слоев дермы, диаметр клубочков и выводных протоков потовых желез, объемная плотность общего, молодого и зрелого коллагенов, коллагенов I и III типов, эластина. Обнаружено, что процедура биоревитализации выбранным препаратом оказывала на кожу благоприятное воздействие. Наблюдалось увеличение толщины эпидермиса, уплотнение дермы, увеличение процентного содержания зрелого коллагена, коллагенов I и III типов, молодого коллагена, процентного содержания эластина.

Ключевые слова: биоревитализация, эпидермис, дерма, структура коллагена

#### Summary

Objective: To study how biorevitalisation can influence on the skin quality. It was used preparation which consist of hyaluronic acid and also trehalose. There are 20 patients who took part in this research: women, whose average age was  $52 \pm 7,54$  years. Once were injected skin of the face, neck and skin behind the right ear. Before and after 1,5 months was taken skin biopsy behind the right ear by punch-biopsy. Was researched: the thickness of epidermis, the thickness of (сосочкового и сетчатого) layers of the dermis, the diameter of the (клубочков) and outlet ducts of the sweat glands, the identification number of the total and mature collagen, collagen types I and III, the young collagen, number of the elastin.

Key words: biorevitalization, epidermis, derma, pattern of collagen

#### Введение

Процедуры биоревитализации прочно вошли в список эффективных косметологических методов омоложения кожи и профилактики возрастных изменений. Создано большое количество биоревитализантов, которые являются как монопрепаратами гиалуроновой кислоты, так и препаратами, которые в своем составе содержат и другие компоненты, усиливающий эффект процедуры биоревитализации – аминокислоты, микро- макроэлементы, витамины и т.д. Классический курс биоревитализации включает в себя от 3 до 5 процедур с интервалом 1-3 недели [1]

На современном этапе препаратов-ревитализантов представлено очень большое количество, но в литературе крайне мало информации о клинических исследованиях, которые бы наглядно показывали изменения кожи при использовании того или иного ревитализанта, кроме того они противоречивы. Так, М. El-Domiati et al. [2] исследовали результаты мезотерапии кожи в периорбитальной

области до курса процедур, сразу после курса биоревитализации, который состоял из 6 инъекций с интервалом 2 недели, и через три месяца после завершения курса. Исследования проводились путем фотографирования периорбитальной зоны до и после курса, а так же проводилось гистологическое и иммуногистохимическое исследование кожи данной области: оценивались коллагены I, III и VII типов, вновь синтезированного коллагена, общего эластина и тропоэластина. После исследования были сделаны выводы о том, что мезотерапия для омоложения кожи не приводит к статистически значимым гистологическим изменениям или клиническому улучшению. К таким же выводам пришли S.P. Amin et al. [3], которые исследовали гистологические показатели кожи до и после курса мультивитаминных препаратов, вводимых в кожу.

Напротив, А. Savoia et al. [4] проводили исследование двух групп пациентов, которым проводилась мезотерапия разными препаратами в количестве 4 процедур с интервалом 15 дней. Затем так же проводилось гистоло-

гическое исследование кожи до процедуры, через 1 месяц и через 2 месяца после курса процедур. Исследовали количество интерлейкина-1, интерлейкина-6, металлопротеиназ и коллагена I типа. Было отмечено снижение количества интрелейкинов, металлопротеиназ и увеличение количество коллагена I типа и сделаны выводы о том, что мезотерапия можете улучшить клиническое состояние кожи в разных возрастных группах.

**Цель работы** - исследование влияния биоревитализации на состояние кожного покрова.

## Материалы и методы

Для процедуры биоревитализации был использован препарат, в состав которого входит, помимо гиалуроновой кислоты, такой компонент как трегалоза (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/08694 от 19.08.2010г). Мы выбрали именно этот препарат, так он имеет уникальный состав, а так же отсутствие необходимости применять его курсом. Препарат позиционируется как пролонгированный биоактиватор за счет наличия дополнительных компонентов. Одна процедура этим препаратом заменяет курс классической биоревитализации, процедура проводится 1 раз в 4-6 месяцев [5,6].

Трегалоза – это дисахарид, состоящий из двух прочно связанных между собой молекул глюкозы. Соединение это является устойчивым. Выяснено, что трегалоза способна создавать вокруг клеточных структур подобие защитного каркаса, что позволяет, в частности, некоторым растениям и насекомым сохранять клетки в неповрежденном состоянии при замораживании, а также при высушивании и при действии других различных неблагоприятных факторов. Предположительно, именно такое действие трегалоза оказывает на клетки кожи при ее воздействии на них. Также трегалоза нивелирует разрушающее воздействие фермента гиалуронидазы, продлевая срок службы гиалуроновой кислоты. По всей видимости, трегалоза является защитником и пролонгатором, благодаря которому эффект от введенного препарата сохраняется столь длительно. Кроме того, трегалоза входит в состав сред, используемых для хранения органов для трансплантации [7-9].

В исследовании принимали участие 20 пациенток, женщины, средний возраст которых составил  $52 \pm 7,54$  года. Всем пациенткам проводилась процедура биоревитализации препаратом, в состав которого входили гиалуроновая кислота и трегалоза. Однократному воздействию подвергалась кожа лица, шеи и заушной области справа. До процедуры и через 1,5 месяца после забиралась биопсия кожи в правой заушной области методом punch-биопсии, диаметр инструмента для забора биопсии detmo-punch составил 3 мм, глубина внедрения detmo-punch составила 2-3 мм до появления капиллярного кровотечения.

Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм после депарафинирования окрашивали гематоксилином и эозином, трехцветным методом по Массону для определения объемной плотности коллагена, по Геровичи для определения молодого коллагена и по Вейгерту для определения

объемной плотности эластина [10]. Для выявления распределения коллагеновых волокон I и III типов проводили иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов с использованием поликлональных антител против данных видов коллагена и полимерной тест-системы с диаминобензидином в качестве хромогена (Histofine® Simple Stein MAX PO MULTI, Япония). В биопсийном материале исследовались следующие показатели: средняя толщина эпидермиса, средняя толщина сосочкового и сетчатого слоев дермы, средний диаметр клубочков и выводных протоков потовых желез, выявление объемной плотности общего и зрелого коллагена, коллагенов I и III типов, молодого коллагена, объемной плотности эластина. Для количественной оценки результатов окрашивания получали микрофотографии образцов ткани с помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа «Carl Zeiss Axi-oskop 40», цифровой камеры «Jenoptik ProgRes CT3», персонального компьютера на базе «Intel® Core™ i7», программного обеспечения «ProgRes CapturePro 2.5». Статистическую обработку полученных данных производили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0» с расчетом среднего значения (M) и ошибки средней (m). Равенство выборочных средних проверяли по непараметрическим критериям Вальда-Вольфовица и U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми принимали критерии при уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При исследовании средней толщины эпидермиса оказалось, что до процедуры биоревитализации она составляла  $70,21 \pm 3,38$  мкм, спустя 1,5 месяца средняя толщина эпидермиса увеличилась на 20% и стала составлять  $85,13 \pm 7,01$  мкм, результаты не показали статистической значимости ( $p = 0,05$ ). Средняя толщина сосочкового и сетчатого слоя дермы до инъекционной процедуры составила  $97,62 \pm 7,98$  мкм и  $667,88 \pm 48,16$  мкм соответственно (рис. 1 *этой и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вкладке журнала – прим. ред.*), после процедуры толщина и сосочкового и сетчатого слоев достоверно уменьшилась на 30% ( $p < 0,01$ ) и стала составлять  $68,95 \pm 5,03$  мкм и  $468,67 \pm 43,53$  мкм (таблица 1).

Первоначально может показаться, что процедура биоревитализации оказывала негативное влияние на дерму, но на самом деле уменьшение толщины дермы произошло из-за снижения пастозности тканей, которая является одним из возрастных признаков. За 1,5 месяца, которые прошли после процедуры, уменьшение толщины сосочкового и сетчатого слоев дермы на 30% за счет регресса структуры дермы невозможно, так как уменьшение толщины дермы происходит на 18-23% за всю жизнь. Кроме того, уменьшение толщины дермы произошло на фоне увеличения толщины эпидермиса, что не соответствует литературным данным об уменьшении толщины как дермы, так и эпидермиса в результате старения.

Об этом же свидетельствуют данные о среднем диаметре выводных протоков потовых желез. До процедуры их средний диаметр составлял  $36,79 \pm 2,03$  мкм,

Таблица 1. Изменение анатомо-физиологических показателей кожи при ее пролонгированной биостимуляции

| Показатель  | До процедуры | Спустя 1,5 месяца<br>после процедуры | Статистическая<br>значимость<br>р |
|---|--------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
|   | M±m          | M±m                                  |                                   |
| Средняя толщина эпидермиса, мкм                     | 70,21±3,38   | 85,13±7,01                           | p=0,05                            |
| Средняя толщина сосочкового слоя дермы, мкм         | 97,62±7,98   | 68,95±5,03                           | p<0,01                            |
| Средняя толщина сетчатого слоя дермы, мкм           | 667,9±48,16  | 468,67±43,53                         | p<0,01                            |
| Средний диаметр концевых отделов потовых желез, мкм | 36,79±2,03   | 41,10±3,81                           | p=0,01                            |
| Объемная плотность общего коллагена, %              | 20,01±2,21   | 26,10±2,73                           | p<0,1                             |
| Объемная плотность молодого коллагена, %            | 21,89±2,92   | 55,51±2,75                           | p<0,01                            |
| Объемная плотность коллагена I типа, %              | 4,44±0,39    | 7,37±0,60                            | p<0,01                            |
| Объемная плотность коллагена III типа, %            | 0,41±0,07    | 0,72±0,12                            | p<0,01                            |
| Объемная плотность зрелого коллагена, %             | 78,13±2,92   | 44,49±2,75                           | p<0,01                            |
| Объемная плотность эластина, %                      | 4,55±0,67    | 5,16±0,55                            | p<0,1                             |

спустя полтора месяца диаметр концевых отделов потовых желез достоверно увеличился и стал 41,10±3,81 мкм (p=0,01). Это же подтверждается данными о количестве коллагена в коже. До процедуры объемная плотность общего коллагена в коже была 20,01±2,21%, после процедуры процентное содержание коллагена увеличилось и составило 26,10±2,73%, увеличение произошло на 23% (рис. 2), хотя данные статистически незначимы (p<0,1) [5].

При анализе объемной плотности молодого коллагена (рис. 3), коллагена I (рис. 4) и III типов (рис. 5) обнаружено достоверное увеличение перечисленных видов коллагена (p<0,01). Эти показатели до процедуры были 21,89±2,92%, 4,44±0,39%, и 0,41±0,07%, после процедуры эти показатели составили: объемная плотность молодого коллагена 55,51±2,75%, объемная плотность коллагена I типа 7,37±0,60%, объемная плотность коллагена III типа 0,72±0,12%. Объемная плотность зрелого коллагена от общего уменьшилась с 78,13±2,92% до 44,49±2,75% за счет выраженного увеличения молодого коллагена и коллагенов I и III типов. Объемная плотность эластических волокон (рис. 6) так же увеличилась с 4,55±0,67 до 5,16±0,55 (p<0,1).

## Заключение

После процедуры биоревитализации препаратом, содержащим помимо гиалуроновой кислоты трегалозу, проводящейся однократно в 4-6 месяцев, происходят существенные изменения в коже, проявляющиеся в уплотнении эпидермиса, уплотнении дермы, достоверного увеличения объемной плотности молодого коллагена, коллагенов I и III типов, увеличения эластиновых волокон, снижении пастозности тканей. ■

*Кудревич Юлия Валерьевна, к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ГОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России; Сычугов Глеб Вячеславович, к.м.н., ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ГОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России; Зыганин Олег Раисович, д.м.н., зав. кафедрой дерматовенерологии ГОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России; Заяц Татьяна Александровна, кафедра патологической анатомии и судебной медицины ГОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России; Автор, ответственный за переписку - Кудревич Ю.В., 454092, г. Челябинск, ул. Яблочкина, 24, ЧОККВД №1, тел. 8-351-90-777-45, e-mail: cy-ton@rambler.ru*

## Литература:

1. Шарова А.А., Губанова Е.И. Новая косметология. Инъекционные методы в косметологии. Косметика и медицина. 2014.
2. El-Domyati M, El-Ammavi TS, Moavad O et al. Efficacy of mesotherapy in facial rejuvenation: a histological and immunohistochemical evaluation. *Int J Dermatol*. 2012; 51(8):913-923.
3. Amin SP, Phelps RG, Goldberg DJ. Mesotherapy for facial skin rejuvenation: a clinical, histologic, and electron microscopic evaluation. *Dermatol Surg*. 2006; 32(12):1467-1472.
4. Savoia A, Landis S, Baldi A. A new minimally invasive mesotherapy technique for facial rejuvenation. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2013; 3(1):83-93.
5. Кудревич Ю.В., Сычугов Г.В., Зыганин О.Р. Анатомо-физиологические изменения кожи при процедуре биоревитализации. *Южно-Уральский медицинский журнал* 2015; 1: 38-41.
6. Лепяева О.И., Гельвигер О.А., Зыганин О.Р. Современные возможности терапии воспалительных заболеваний урогенитального тракта неgonocкокковой этиологии у женщин. *Клиническая дерматология и венерология* 2011; 4: 95-100.
7. Досон Р., Эллиот Д. Эллиот У. Справочник биохимика. М: Мир. 1991.
8. Ким А.А. Органическая химия. Учебное пособие. Химия 1991.
9. Общая органическая химия. Под ред. Кочетков А.А. Химия. 1996.
10. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. М: Медицина 2005.



Рис. 7. Отсутствие экспрессии PIGF в структурах ворсин хориона плаценты женщины II группы. Окраска – иммуногистохимический метод, полимерная тест-система;  $\times 100$ .

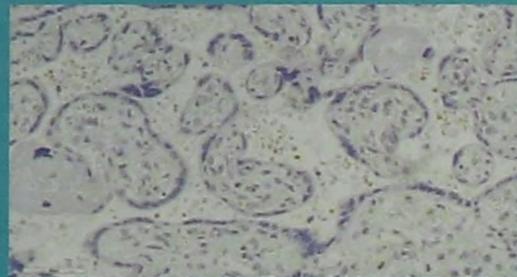


Рис. 8. Отсутствие экспрессии PIGF в структурах ворсин хориона плаценты женщины II группы. Деталь рис. 7. Окраска – иммуногистохимический метод, полимерная тест-система;  $\times 400$ .

*Кудревич Ю.В., Сычугов Г.В., Зиганин О.Р., Заяц Т.А.*

#### Изменения структурных показателей кожи при воздействии биоревитализации

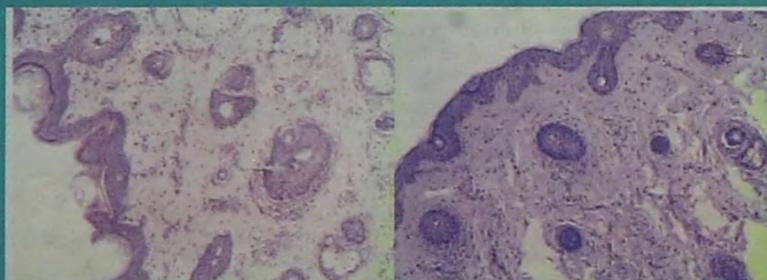


Рис. 1. Общий вид гистологического микропрепарата кожи. До проведения процедуры (слева): эпидермис истончен, придатки кожи разделены широкими фиброзными прослойками, в строме незначительная лимфогистиоцитарная инфильтрация. После процедуры биоревитализации (справа): эпидермис более широкий по сравнению с I группой, в строме незначительная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

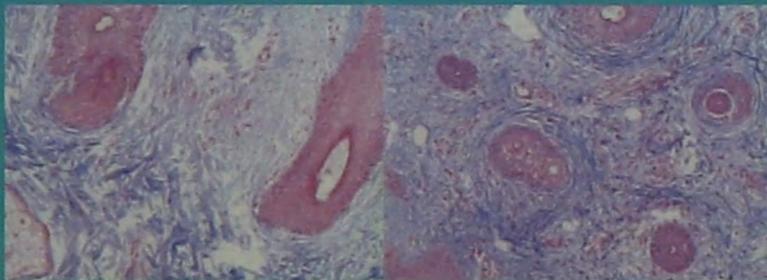


Рис. 2. Содержание общего коллагена в дерме (волокна синего цвета)

Скопление толстых, хаотично расположенных коллагеновых волокон в сетчатом слое дермы до процедуры (слева); упорядоченное расположение коллагеновых волокон средней толщины в сосочковом и сетчатом слоях дермы после процедуры (справа). Трехцветная окраска по Masson,  $\times 200$ .

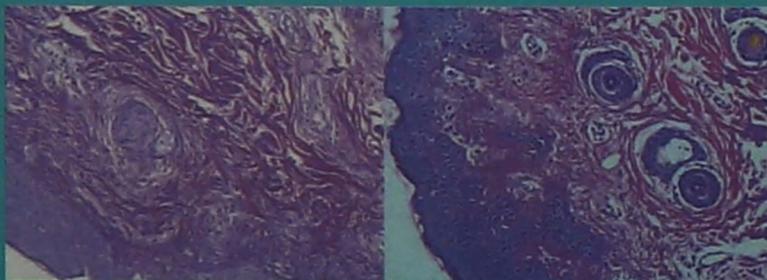


Рис. 3. Диффузное окрашивание волокон зрелого коллагена в сосочковом и сетчатом слоях дермы (пурпурный цвет), незначительное количество тонких волокон молодого коллагена в субэпидимарной зоне (сине-сиреневый цвет), до процедуры (слева). Преимущественное накопление зрелого коллагена в сетчатом слое дермы, выраженное содержание молодого коллагена в сосочковом слое дермы после процедуры (справа).  
Окраска по Herovici, x200.

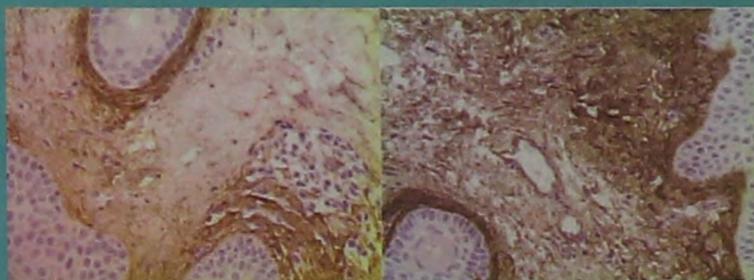


Рис. 4. Экспрессия коллагена I типа в сосочковом слое дермы (преимущественно субэпидермально и периваскулярно), до процедуры (слева). Диффузная экспрессия коллагена I типа в сосочковом слое дермы после процедуры (справа). Иммуногистохимический метод с АТ против collagen I, полимерная тест-система, x400.

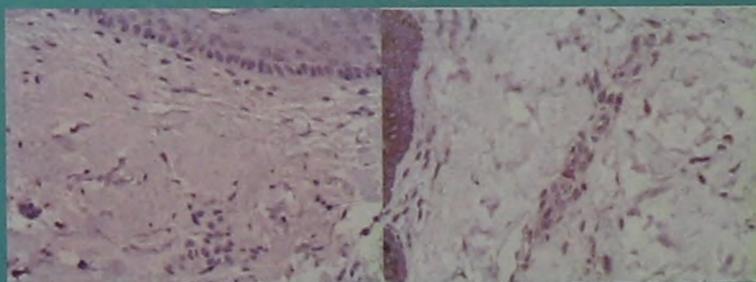


Рис. 5. Слабая рассеянная экспрессия коллагена III типа в сосочковом слое дермы до процедуры (слева). Преимущественно субэпидермальная и периваскулярная экспрессия коллагена III типа в сосочковом слое дермы после процедуры (справа). Иммуногистохимический метод с АТ против collagen III, полимерная тест-система, x400.

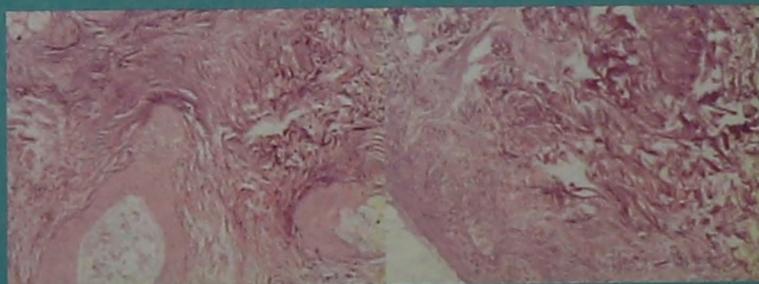


Рис. 6. Фрагментированные, утолщенные эластические волокна (темно-фиолетовый цвет) в сетчатом слое дермы до процедуры (слева). Длинные тонкие эластические волокна в сетчатом слое дермы после процедуры (справа).  
Окраска по Weigert, x200.