

Троценко Т.В., Помыткин И.А.

ВОЗРАСТНОЙ ДЕФИЦИТ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 α И СТАРЕНИЕ КОЖИ:

можно ли вернуть нормальную структуру и функцию кожи препаратами интерлейкина-1 α ?

Изучены возможности восстановления функций стареющей кожи путем компенсации дефицита интерлейкина-1 α . Пептидную композицию Dermatopoietin®, содержащую малые дозы интерлейкина-1 α , наносили на кожу предплечий 22 здоровых женщин-волонтеров в течение 8 недель. Результаты исследования указывают на улучшение биомеханических свойств кожи и явный «омолаживающий» эффект IL-1 α в составе композиции Dermatopoietin®. Это позволяет рекомендовать препараты, которые содержат интерлейкин-1 α , для применения в косметической клинической практике.

Ключевые слова: интерлейкин-1 α , старение кожи, пептидная композиция Dermatopoietin®.

ИНТЕРЛЕЙКИН-1 α — ЭПИДЕРМАЛЬНЫЙ ЦИТОКИН, ПОДДЕРЖИВАЮЩИЙ НОРМАЛЬНУЮ СТРУКТУРУ И ФУНКЦИИ КОЖИ

Интерлейкин-1 α (IL-1 α) был первым цитокином, обнаруженным в коже человека [1–3]. Он производится кератиноцитами постоянно и в больших количествах, до 600 тыс. международных единиц активности в одном грамме эпидермиса [4]. Биологическая активность IL-1 α

распределена примерно поровну между роговым слоем эпидермиса (лат. *stratum corneum*) и живыми кератиноцитами [4–6]. Продукцию IL-1 α в коже могут повышать внешние факторы, например, ультрафиолетовое облучение В [7, 8], химические вещества типа гликолевой кислоты [9] и даже механические воздействия [10].

IL-1 α является мастер-регулятором, участвующим в поддержании нормальной структуры и функции кожи. В частности, он представляет собой первичный индуктор регенерации эпидермиса. В ответ на IL-1 α фибробласты дермы экспрессируют фактор роста кератиноцитов (KGF), жизненно необходимый для регенерации эпидермиса [11–14]. IL-1 α необходим для успешного заживления ран. Недостаточное действие IL-1 α , помимо замедленной эпителизации, может приводить к образованию рубцов [15, 16]. IL-1 α стимулирует синтез эпидермальных липидов и таким образом участвует в поддержании барьерной функции эпидермиса [17].

IL-1 α играет важную роль в регуляции биосинтеза компонентов внеклеточного матрикса дермы. В ответ на стимуляцию IL-1 α фибробласты дермы производят проколлаген I и III типов [18–21], тропоэластин [22] и глюкозаминогликаны, в т.ч. гиалуроновую кислоту [19, 20].

IL-1 α участвует в защите кожи от инфекций, селективно повышает экспрессию антимикробных пептидов, модулирующих врожденный клеточный иммунитет в коже, в т.ч. β -дефензина-1 [23] и β -дефензина-2 [23, 24], кателицидина LL-37 [23], липокалина-2 [25, 26] и калпротектинового комплекса S100A8/S100A9 [25, 27]. Пептиды исходно синтезируются в супрабазальных кератиноцитах и со временем распределяются в эпидермисе, включая роговой слой [24].

Троценко Татьяна Викторовна, врач-дерматокосметолог, ведущий специалист ООО «АСТРЕЯ» (Москва, Россия)

Помыткин Игорь Анатольевич, к.х.н., главный разработчик и научный консультант United Cosmeceuticals (Швейцария)

СТАРЕНИЕ И ДЕФИЦИТ РЕГУЛЯЦИИ КОЖИ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-1α

Процесс старения прогрессивно выводит кожу из-под регуляции IL-1α. Как постоянная, так и индуцируемая продукция IL-1α в коже прогрессивно снижается с максимальных значений в первые 20 лет жизни до минимальных у лиц в возрасте после 70 лет [28, 29]. Эти данные позволяют говорить о дефиците регуляции IL-1α как о характеристической особенности стареющей кожи. Учитывая роль IL-1α, следствиями его возрастного дефицита могут быть уменьшение способности кожи к заживлению, снижение барьерной функции кожи, ослабление врожденного клеточного иммунитета, увеличение риска инфекций и новообразований [30, 31], а также уменьшение способности кожи синтезировать основные компоненты внеклеточного матрикса — гиалуроновую кислоту, эластин и коллаген.

Потеря коллагена является особенно важной проблемой, лежащей в основе возрастных изменений кожи [32]. Коллаген I типа — основной компонент кожи человека (более 90% в пересчете на сухой вес). Он обеспечивает механическую прочность кожи и формирует определенную структуру, необходимую для высокой метаболической активности фибробластов. Только фибробласты, присоединенные к волокнам коллагена и получающие механическую информацию, способны производить компоненты матрикса — гиалуроновую кислоту, эластин и коллаген. Возрастная деградация коллагена ведет к коллапсу фибробластов и снижению их синтетической способности.

Можно предположить, что компенсация дефицита IL-1α является многообещающим подходом к восстановлению функций стареющей кожи.

ДЕРМАТОПОИЕТИН® — ПЕПТИДНАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ IL-1α

Контролируемое использование IL-1α в составе наружных дерматологических продуктов является технической проблемой, потому что эпидермис экспрессирует дополнительное количество эндогенного IL-1α в ответ на аппликацию экзогенного IL-1α [33]. Для подавления нежелательной экспрессии эндогенного IL-1α была разработана пептидная композиция Dermatopoietin®, в которой содержатся малые дозы рекомбинантного человеческого IL-1α, полученного на основе синтетической сДНК (sh-poly peptide-17), и синтетический пептид (hexapeptide-18). Его роль состоит в подавлении нежелательной экспрессии эндогенного IL-1α в ответ на стимуляцию IL-1α. Результаты клинических испытаний пептидной композиции Dermatopoietin® и ее влиянии на баланс коллагена в стареющей коже представлены ниже.

Клиническое исследование эффектов пептидной композиции, содержащей IL-1α, методом ультразвунографии

Целью исследования являлась оценка эффективности влияния пептидной композиции Dermatopoietin® на

баланс коллагена в стареющей коже у здоровых добровольцев при наружном применении.

Материалы и методы исследования

Пептидную композицию Dermatopoietin®, содержащую 0,000005% sh-poly peptide-17 и 0,02% hexapeptide-18, наносили на кожу предплечий 22 здоровых женщин-волонтеров (средний возраст 51 ± 6 лет) один раз в день в течение 8 нед. Ультрасонография 20 МГц проводилась до начала аппликаций, на 4-й и 8-й нед после начала аппликаций Dermatopoietin®. На ультрасонограммах определяли число темных пикселей (number of dark pixels, NDP) и суммарную толщину эпидермиса и дермы (epidermis-dermis thickness, EDT). Оценка биомеханических свойств кожи проводилась с использованием прибора Cutometer® SEM 575. Статистический анализ результатов выполнен с использованием непараметрического пермутационного теста (StatXact v.5.0.1). Исполнитель исследований — Dr. Alain Béguin, Skin Test Institute (Neuchâtel, Switzerland).

Результаты исследования

Репрезентативная ультрасонограмма кожи 20 МГц представлена на рис. 1. На ультрасонограмме (день 0) виден характерный признак старения кожи, а именно темная полоса SLEB (sub-epidermal low echogenic band, субэпидермальная низкоэхогенная область), указывающая на потерю коллагена в субэпидермальной зоне, прилегающей к эпидермису [34]. Уровень коллагена в этой зоне был восстановлен уже к 4-й нед применения пептидной композиции.

В целом применение композиции Dermatopoietin® в течение 4 нед уменьшило NDP на 53% ($p < 0,0001$) и увеличило суммарную толщину эпидермиса и дермы EDT на 7,5% ($p < 0,01$). Эти изменения сопровождалось улучшением биомеханических свойств кожи. Общая эластичность кожи достоверно увеличилась на 21% ($p < 0,05$), причем наблюдалось достоверное уменьшение соотношения вязкоэластичного компонента эластичности к упругому на 5% ($p < 0,001$). Учитывая, что повышение вязкого компонента эластичности кожи является

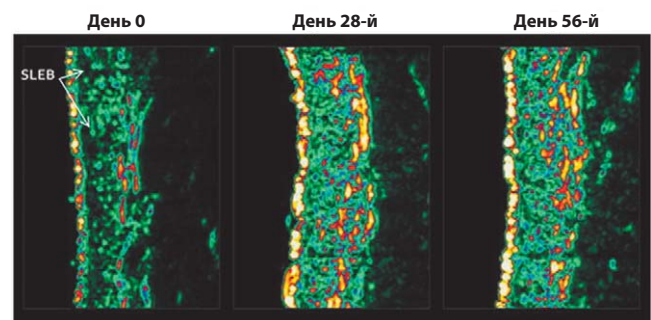


Рис. 1. Ультрасонограммы 20 МГц кожи до и после применения IL-1α в составе композиции Dermatopoietin®

SLEB (субэпидермальная низкоэхогенная область) — характерный признак стареющей кожи, указывает на потерю коллагена в зоне, прилегающей к эпидермису.

признаком старения кожи [35], результаты исследования указывают на явный «омолаживающий» эффект применения IL-1α в составе композиции Dermatopietin®.

Визуализация коллагена и эластина в дерме методом флуоресцентной микроскопии

Двухфотонная лазерная флуоресцентная микроскопия была использована для визуализации распределения волокон коллагена и эластина в стареющей коже до и после применения пептидной композиции Dermatopietin®.

Материалы и методы исследования

Гель, содержащий пептидную композицию Dermatopietin® (0,000005% sh-polypeptide-17 и 0,02% hexapeptide-18), или плацебо наносили на кожу предплечий здорового мужчины-волонтера (63 года) дважды в день в течение 4 нед. Изображения кожи с вертикальным шагом 1 μm в глубину до 200 μm были получены с использованием фемтосекундного лазера Mai Tai Broad Band DeepSee. Статистический анализ результатов проводился с использованием непараметрического теста Манна-Уитни-Уилкоксона. Исполнитель исследований — Dr. Leo Khirug, Neurotar Ltd (Helsinki, Finland).

Результаты исследования

Репрезентативные изображения дермы на глубине 80 μm до и после применения плацебо и композиции Dermatopietin® представлены на рис. 2А. Изображения, полученные на момент начала исследования (день 0), указывают на значительную возрастную деградацию коллагена (красные волокна) и эластина (зеленые волокна). Применение композиции Dermatopietin® в течение 4 нед улучшило структуру кожи: на изображении

очетливо видны вновь синтезированные волокна коллагена и эластина. Сравнение кривых распределения коллагена в коже показывает, что Dermatopietin® достоверно увеличил суммарное количество коллагена в дерме на глубине 50–150 μm по сравнению с плацебо (+75% vs +8%, p < 0,01; рис. 2В). Таким образом, пептидная композиция, содержащая малые дозы IL-1α, эффективно уменьшила возрастной дефицит коллагена.

Использование этой композиции привело к образованию высокоупорядоченной структуры коллагена в дерме (рис. 3). На изображениях видно, что волокна коллагена и эластина сформированы вокруг кровеносных сосудов и образуют независимые структурные блоки.

Выводы

Компенсация возрастного дефицита IL-1α в коже достигалась использованием малых доз IL-1α в составе композиции Dermatopietin®. В результате достоверно улучшена структура кожи путем увеличения биосинтеза коллагена и эластина, а также формирования высокоупорядоченной структуры дермы. Эти позитивные структурные изменения сопровождались достоверным улучшением механических свойств кожи. Уменьшение характеристических признаков стареющей кожи позволяет говорить об «омолаживающем» эффекте композиции Dermatopietin®. В целом опыт применения этой композиции свидетельствует о пользе компенсации возрастного дефицита IL-1α для восстановления структуры и функций стареющей кожи.

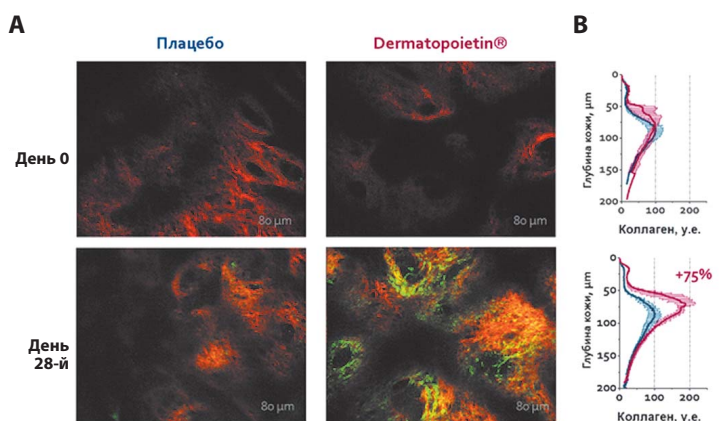


Рис. 2. Влияние IL-1α в составе пептидной композиции Dermatopietin® на баланс коллагена и эластина в коже

А — изображения дермы на глубине 80 μm (вид кожи сверху), полученные методом двухфотонной лазерной флуоресцентной микроскопии до (день 0) и после (день 28-й) применения плацебо или композиции Dermatopietin®. Волокна коллагена выделены красным цветом, волокна эластина — зеленым. В — распределение коллагена в глубине кожи, полученное этим же методом. Плацебо — кривая синего цвета, Dermatopietin® — кривая красного цвета.

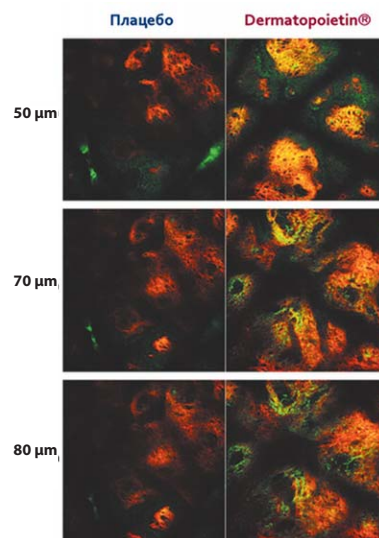


Рис. 3. Структура распределения коллагена и эластина в дерме после применения IL-1α в составе пептидной композиции Dermatopietin®

Изображения дермы на глубинах 50, 70 и 80 μm (вид кожи сверху), полученные методом двухфотонной лазерной флуоресцентной микроскопии после 28 дней применения плацебо или композиции Dermatopietin®. Волокна коллагена выделены красным цветом, волокна эластина — зеленым.

ЛИТЕРАТУРА

- Luger T.A., Stadler B.M., Katz S.I., Oppenheim J.J. Epidermal cell-(keratinocyte)-derived thymocyte-activating factor (ETAF). *J Immunol* 1981; 127(4): 1493–1498.
- Sauder D.N., Carter C.S., Katz S.I., Oppenheim J.J. Epidermal cell production of thymocyte-activating factor (ETAF). *J Invest Dermatol* 1982; 79(1): 34–39.
- Kupper T.S., Ballard D.W., Chua A.O., McGuire J.S., Flood P.M., Horowitz M.C., Langdon R., Lightfoot L., Gubler U. Human keratinocytes contain mRNA indistinguishable from monocyte interleukin-1 alpha and beta mRNA. Keratinocyte epidermal cell-derived thymocyte-activating factor is identical to interleukin 1. *J Exp Med* 1986; 164(6): 2095–2100.
- Gahring L.C., Buckley A., Daynes R.A. Presence of epidermal-derived thymocyte-activating factor/interleukin-1 in normal human stratum corneum. *J Clin Invest* 1985; 76(4): 1585–1591.
- Hauser C., Saurat J., Schmitt A., Jaunin F., Dayer J. Interleukin-1 is present in normal human epidermis. *J Immunol* 1986; 136(9): 3317–3323.
- Schmitt A., Hauser C., Jaunin F., Dayer J., Saurat J. Normal epidermis contains high amounts of natural tissue IL-1 biochemical analysis by HPLC identifies a MW approximately 17 Kd form with a pH 5,7 and a MW approximately 30 Kd form. *Lymphokine Res* 1986; 5(2): 105–118.
- Kupper T., Chua A., Flood P., McGuire J., Gubler U. Interleukin-1 gene expression in cultured human keratinocytes is augmented by ultraviolet irradiation. *J Clin Invest* 1987; 80(2): 430–436.
- Chung J.H., Youn S.H., Koh W.S., Eun H.C., Cho K.H., Park K.C., Youn J.I. Ultraviolet B irradiation-enhanced interleukin-6 production and mRNA expression are mediated by IL-1 α in cultured human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1996; 106(4): 715–720.
- Jeong S.K., Ko J.Y., Seo J.T., Ahn S.K., Lee C.W., Lee S.H. Stimulation of epidermal calcium gradient loss and increase in TNF-alpha and IL-1 alpha expressions by glycolic acid in murine epidermis. *Exp Dermatol* 2005; 14(8): 571–579.
- Lee R.T., Briggs W.H., Cheng G.C., Rossiter H.B., Libby P., Kupper T. Mechanical deformation promotes secretion of IL-1 alpha and IL-1 receptor antagonist. *J Immunol* 1997; 159(10): 5084–5088.
- Maas-Szabowski N., Shimotoyodome A., Fusenig N.E. Keratinocyte growth regulation in fibroblast cocultures via a double paracrine mechanism. *J Cell Sci* 1999; 112 (Pt 12): 1843–1853.
- Maas-Szabowski N., Stark H., Fusenig N. Keratinocyte growth regulation in defined organotypic cultures through IL-1-induced keratinocyte growth factor expression in resting fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2000; 114(6): 1075–1084.
- Szabowski A., Maas-Szabowski N., Andrecht S., Kolbus A., Schorpp-Kistner M., Fusenig N., Angel P. C-Jun and JunB antagonistically control cytokine-regulated mesenchymal-epidermal interaction in skin. *Cell* 2000; 103(5): 745–755.
- Werner S., Smola H. Paracrine regulation of keratinocyte proliferation and differentiation. *Trends Cell Biol* 2001; 11(4): 143–146.
- Chen J.D., Lapiere J.C., Sauder D.N., Peavey C., Woodley D.T. Interleukin-1 alpha stimulates keratinocyte migration through an epidermal growth factor/transforming growth factor-alpha-independent pathway. *J Invest Dermatol* 1995; 104(5): 729–733.
- Nowinski D., Höijer P., Engstrand T., Rubin K., Gerdin B., Ivarsson M. Keratinocytes inhibit expression of connective tissue growth factor in fibroblasts *in vitro* by an interleukin-1 alpha-dependent mechanism. *J Invest Dermatol* 2002; 119(2): 449–455.
- Barland C.O., Zettersten E., Brown B.S., Ye J., Elias P.M., Ghadially R. Imiquimod-induced interleukin-1 alpha stimulation improves barrier homeostasis in aged murine epidermis. *J Invest Dermatol* 2004; 122(2): 330–336.
- Postlethwaite A.E., Raghov R., Stricklin G.P., Poppleton H., Seyer J.M., Kang A.H. Modulation of fibroblast functions by interleukin-1: Increased steady-state accumulation of type I procollagen messenger RNAs and stimulation of other functions but not chemotaxis by human recombinant interleukin 1 alpha and beta. *J Cell Biol* 1988; 106(2): 311–318.
- Postlethwaite A.E., Smith G.N. Jr., Lachman L.B., Endres R.O., Poppleton H.M., Hasty K.A., Seyer J.M., Kang A.H. Stimulation of glycosaminoglycan synthesis in cultured human dermal fibroblasts by interleukin-1. Induction of hyaluronic acid synthesis by natural and recombinant interleukin-1 α and synthetic interleukin-1 beta peptide 163–171. *J Clin Invest* 1989; 83(2): 629–636.
- Duncan M.R., Berman B. Differential regulation of collagen, glycosaminoglycan, fibronectin, and collagenase activity production in cultured human adult dermal fibroblasts by interleukin 1-alpha and beta and tumor necrosis factor-alpha and beta. *J Invest Dermatol* 1989; 92(5): 699–706.
- Mauviel A., Heino J., Kähäri V., Hartmann D., Loyau G., Pujol J., Vuorio E. Comparative effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on collagen production and corresponding procollagen mRNA levels in human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1991; 96(2): 243–249.
- Werth V.P., Williams K.J., Fisher E.A., Bashir M., Rosenbloom J., Shi X. UVB irradiation alters cellular responses to cytokines: Role in extracellular matrix gene expression. *J Invest Dermatol* 1997; 108(3): 290–294.
- Erdag G., Morgan J. Interleukin-1 alpha and interleukin-6 enhance the antibacterial properties of cultured composite keratinocyte grafts. *Ann Surg* 2002; 235(1): 113–124.
- Liu A., Destoumieux D., Wong A., Park C., Valore E., Liu L., Ganz T. Human beta-defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria and the state of differentiation. *J Invest Dermatol* 2002; 118(2): 275–281.
- Bando M., Hiroshima Y., Kataoka M., Shinohara Y., Herzberg M., Ross K., Nagata T., Kido J. Interleukin-1 alpha regulates antimicrobial peptide expression in human keratinocytes. *Immunol Cell Biol* 2007; 85(7): 532–537.
- Yano S., Banno T., Walsh R., Blumenberg M. Transcriptional responses of human epidermal keratinocytes to cytokine interleukin-1. *J Cell Physiol* 2008; 214(1): 1–13.
- Bando M., Hiroshima Y., Kataoka M., Herzberg M., Ross K., Shinohara Y., Yamamoto T., Nagata T., Kido J. Modulation of calprotectin in human keratinocytes by keratinocyte growth factor and interleukin-1 alpha. *Immunol Cell Biol* 2010; 88(3): 328–333.
- Sauder D.N., Stanulis-Praeger B.M., Gilchrist B.A. Autocrine growth stimulation of human keratinocytes by epidermal cell-derived thymocyte-activating factor: Implications for skin aging. *Arch Dermatol Res* 1988; 80(2): 71–76.
- Suh D.H., Youn J.I., Eun H.C. Effects of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate [corrected] and sodium lauryl sulfate on the production and expression of cytokines and proto-oncogenes in photoaged and intrinsically aged human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2001; 117(5): 1225–1233.
- Sauder D.N. Effect of age on epidermal immune function. *Clin Geriatr Med* 1989; 5(1): 149–160.
- Gilchrist B.A., Garmyn M., Yaar M. Aging and photoaging affect gene expression in cultured human keratinocytes. *Arch Dermatol* 1994; 130(1): 82–86.
- Fisher G., Varani J., Voorhees J. Looking older: Fibroblast collapse and therapeutic implications. *Arch Dermatol* 2008; 144(5): 667–672.
- Lee S.W., Morhenn V.B., Ilnicka M., Eugui E.M., Allison A.C. Autocrine stimulation of interleukin-1 alpha and transforming growth factor alpha production in human keratinocytes and its antagonism by glucocorticoids. *J Invest Dermatol* 1991; 97(1): 106–110.
- Gniadecka M. Effects of ageing on dermal echogenicity. *Skin Res Technol* 2001; 7(3): 204–207.
- Ryu H.S., Joo Y.H., Kim S.O., Park K.C., Youn S.W. Influence of age and regional differences on skin elasticity as measured by the Cutometer. *Skin Res Technol* 2008; 14(3): 354–358.