

*ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ*

© Сельская Б.Н., 2016  
УДК 615.26.015.42:612.79

**СОДЕРЖАНИЕ КОЛЛАГЕНА В КОЖЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНЪЕКЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА, ПРИМЕНЯЕМОГО ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ИНВОЛЮЦИОННО-ДЕПРЕССИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ**

Б.Н. СЕЛЬСКАЯ

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

**THE CONTENT OF COLLAGEN IN THE SKIN OF EXPERIMENTAL ANIMALS WHEN INJECTED COLLAGEN DRUG USED FOR CORRECTION OF INVOLUTIONAL DEPRESSION-RELATED SKIN CHANGES**

B.N. SELSKAYA

Bashkir State Medical University, Ufa

В эксперименте на 78 самках белых крыс зрелого возраста (8-10 месяцев) изучали содержание в коже нейтральносолеорастворимого и суммарного коллагена при внутредермальном введении препарата «КОЛЛОСТ гель» (Россия), содержащего 7% нативный коллаген типа I из кожи крупного рогатого скота в растворе глюкозы. Препарат вводили трижды из расчёта 0,06 мл на кг массы животного в кожу боковых поверхностей туловища после предварительного удаления шерстяного покрова на 1-е сутки, через 2 и 6 суток после первой инъекции. Установлено увеличение в коже содержания нейтральносолеорастворимой и суммарной фракции коллагена через 3-5 недель после начала инъекций препарата, что характеризует активацию биосинтетических функций фибробластов дермы.

*Ключевые слова:* коллаген кожи, внутредермальное введение коллагенсодержащего препарата.

In the experiment on 78 female albino rats of mature age (8-10 months) was studied the content in the skin of neutral salt-soluble and total collagen when administered intradermally the drug "COLLOST gel" (Russia), comprising 7% of type I native collagen from the skin of cattle in glucose solution. The drug was administered three times the rate of 0.06 ml per kg body weight into the skin of the side surfaces of the body, after first removing the coat on day 1, 2 and 6 days after the first injection. The increase of content of neutral salt-soluble and total collagen fraction in the skin in a 3-5 weeks after the injection of the drug which characterized the activation of biosynthetic functions of dermal fibroblasts was found.

*Keywords:* skin collagen, intra dermal administration of the collagen-drug.

Старение – закономерный процесс, нарастающий во времени, затрагивающий все уровни биологической организации. Старение кожи находится под влиянием различных факторов: особенностей генетического аппарата и его фенотипической реализации, своеобразия биохимического гомеостаза и нейроэндокринной регуляции, воздействий внешней среды, климатических условий, образа жизни, характера питания, вредных привычек и др. Во многом визуализируемые возрастные признаки кожи связаны с состоянием клеток соединительной ткани, дезорганизацией компонентов экстрацеллюлярного матрикса и главным образом, коллагена [6]. В структуре эпидермиса и дермы при старении формируются дегенеративные изменения. Для коррекции этих изменений используются в эстетической медицине различные инъекционные препараты, содержащие коллаген [2, 7]. Положительные результаты их применения подтверждается такими специальными методами исследований, как эластометрия, гидрометрия, доплерометрия, оптическая когерентная томография, однако биохимические механизмы эффекта применения препаратов на основе коллагена в достаточной мере не охарактеризованы.

#### **Цель исследования**

Оценить содержание суммарного коллагена и его нейтральносолеорастворимой фракции в коже экспериментальных животных в области внутридермального введения методом мезотерапии препарата коллагена типа I.

#### **Материал и методы**

Эксперименты проведены на 78 белых крысах-самках зрелого возраста (8-10 месяцев) массой 280-310 г с соблюдением этических норм и рекомендаций по гуманному отношению к животным. Животным опытной группы под легким эфирным наркозом внутридермально техникой мезотерапии вводили на боковые поверхности туловища после предварительного удаления шерстяного покрова препарат «КОЛ-ЛОСТ гель (Россия)», содержащий 7% раствор нативного нереконструированного

коллагена типа I из кожи крупного рогатого скота в растворе глюкозы для инъекций. Препарат вводили на площади 3x4 см из расчета 0,06 мл на кг массы животного трижды на 1-е сутки, через 2 и 6 суток от начала эксперимента. Контрольной группе крыс внутридермально вводили стерильный раствор глюкозы для инъекций. Животных выводили из эксперимента на 2-й, 4-й, 7-й, 21-й и 37-й дни опыта под лёгким эфирным наркозом. Для исследований использовали кожу в местах введения препарата коллагена.

В коже определяли содержание нейтральносолеорастворимого и суммарного коллагена и свободного гидроксипролина [1]. Нейтральносолеорастворимый коллаген экстрагировали из ткани кожи, обезжиренного смесью этанола и этилового эфира, 0,2 М раствором хлористого натрия при температуре 4°C при встряхивании в течение 24 часов [5]. Экстракт подвергали гидролизу в ампулах в течение 6 часов при 106°C в 6,0 н растворе соляной кислоты. Для определения суммарного коллагена обезжиренную ткань кожи заправляли в ампулы с 6,0 н раствором соляной кислоты и гидролизировали при 106°C в течение 6 часов [1]. О содержании коллагена судили по уровню гидроксипролина, определяемого в гидролизатах.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 for Windows.

#### **Результаты и их обсуждение**

Внутридермальное введение коллагенсодержащего препарата приводило у экспериментальных животных к изменению показателей метаболизма коллагена в коже (табл. 1).

Содержание нейтральносолеорастворимого и суммарного коллагена у животных опытной группы статистически значимо увеличивается на 2-е, 4-е, 21-е и 37-е сутки эксперимента, снижаясь на 7-е сутки опыта. Уровень свободного оксипролина, отражающего интенсивность деградации коллагена, снижается на 1-е и 21-е сутки от

начала введения препарата коллагена, а на 7-е сутки, наоборот, повышается.

В состав дермы входит волокнообразующие коллагены I, III и V типов, ассоциированные с фибриллами коллагены типа XII, XIV и XXII, коллаген типа VII, относящийся к «заякоренным» и обнаруживаемые на границе дермы эпидермиса, а также коллаген типа VI [4]. Количественно наиболее представленными в коже являются коллагены типа I и III. Соотношение их уровней на протяжении жизни меняется: коллаген типа III превалирует в эмбриональном и раннем постнатальном периодах, а у лиц зрелого возраста доминирует коллаген типа I [8]. Коллаген III типа входит в состав ретикулиновых волокон, V типа

присутствует внутри фибрилл коллагена типа I, самостоятельно не образует фибриллы, а принимает участие в их формировании. Коллагены типов XII, XIX и XXII располагаются на поверхности фибрилл коллагена типа I, коллаген типа VI и VII образуют микрофибриллы, участвуя в прикреплении клеток к базальным мембранам. Таким образом, основным и наиболее распространенным коллагеном кожи в зрелом возрасте являются коллаген типа I. Он образует фибриллы и волокна, обеспечивающие прочность ткани кожи на растяжение и разрыв, которым высокую продольную прочность придает развитая система интермолекулярных поперечных связей.

Таблица 1

**Содержание коллагена в коже при внутридермальной инъекции коллагенсодержащего препарата, Me [Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>]**

Показатели, ммоль оксипролина/кг сухой массы	Группа животных					
	Контрольная, n=16	Опытная				
		2-суток, n=10	4-е сутки, n=12	7-е сутки, n=14	21-е сутки, n=12	37-е сутки, n=14
Нейтральнорастворимый коллаген	7,4 [4,1;8,6]	16,6 [11,7;16,7] P<0,0001	10,7 [7,1;13,7] P=0,0150	4,8 [3,8;5,3] P=0,0308	12,9 [11,8;14,2] P<0,0001	18,5 [12,3;28,0] P<0,0001
Суммарный коллаген	251 [221;262]	308 [305;320] P<0,0001	312 [274;358] P=0,0001	234 [214;248] P=0,5907	320 [233;336] P=0,0186	334 [314;458] P<0,0001
Свободный оксипролин	15,5 [11,8;32,7]	11,8 [8,1;15,9] P=0,0224	16,4 [14,2;17,5] P=0,7319	18,1 [13,9;20,5] P=0,0487	12,6 [10,4;15,9] P=0,0344	11,8 [10,7;15,2] P=0,0308

Примечание: P по U-критерию Манна-Уитни в сравнении с контрольной группой.

В синтезе и формировании зрелого коллагена различают ряд этапов: трансляцию препро- $\alpha$ -цепей, образование про- $\alpha$ -цепи, формирование трехспиральной макромолекулы, гидроксирование ряда остатков пролина и лизина и гликозилирование некоторых остатков оксипролина, образование и секреция тропоколлагена во внеклеточное пространство, образование интермолекулярных и интрамолекулярных поперечных связей, формирование надмолекулярных структур – микрофибрилл, фибрилл и волокон коллагена [4]. В зависимости от уровня «созревания» коллагена возможно их экстракция

разными растворами: нейтральных солей (NaCl), органических кислот (цитрат), щелочей (NaOH), мочевины. Нейтрально-соле-растворимый (растворимый) коллаген является компонентом, отражающим содержание коллагена, не вовлеченного в образование фибрилл, и коллагена, подвергнутого частичной деградации, в то время как цитратрастворимая и нерастворимая фракции – уровни организации фибрилл и волокон коллагена.

Если на 1-е и 4-е сутки повышение нейтрально-соле-растворимого и суммарного коллагена, вероятно, связано с наполнением внеклеточного матрикса дермы кожи экс-

периментальных животных введением экзогенного коллагена, то на поздние сроки наблюдения – интенсификацией процессов неоколлагеногенеза в дерме.

Об активации биосинтетических функций фибробластов кожи при действии препаратов коллагена свидетельствуют экспериментальные и клинические данные [2, 9, 11].

#### **Выводы**

Внутридермальное введение техникой мезотерапии препарата нативного нереконструированного коллагена типа I экспериментальным животным приводит через 3-5 недель наблюдения к увеличению в коже в области инъекции препарата содержания нейтральносолеорастворимой и суммарной фракции коллагена, характеризуя активацию биосинтетической функции фибробластов кожи.

#### **Литература**

1. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани: методические рекомендации / П.Н. Шараев [и др.]. – Ижевск, 1990. – 22 с.
2. Кубанова А.А. Старение кожи и возможности коррекции препаратом коллагена / А.А. Кубанова, В.А. Смольяникова, Н.Г. Служаева // Вестник дерматологии и венерологии. – 2007. – №5. – С. 70-73.
3. Медведева И.И. Редермализация как метод коррекции признаков старения кожи / И.И. Медведева // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2012. – №6. – С. 15-19.
4. Омеляненко Н.П. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / Н.П. Омеляненко, Л.И. Слуцкий; под ред. С.П. Миронова. – М.: Изд-во «Известия», 2009. – Т. 1. – 380 с.
5. Прошина Л.Я. Исследование функционального состояния коллагена в ткани печени / Л.Я. Прошина, М.Н. Приваленко // Вопросы мед. химии. – 1982. – Вып. 1. – С. 115-119.
6. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения / А.Л. Зорина [и др.] // Клеточная трансплантация и тканевая инженерия. – 2011. – Т. VI, №2. – С. 15-26.
7. A composite damall filler comprising cross-linked hyaluronic aid and human collagen for tissue reconstruction / Z-Hun Kim [et al.] // Y. Microbiol. Biotechnol. – 2015. – Vol. 25, №3. – P. 399-466.
8. Cheng W. The content and ratio of type I and III collagen in skin differ: with age and injury / W. Cheng [et al.] // African Y. Biotechnology. – 2011. – Vol. 10, № 13. – P. 2524-2529.
9. Effect of ingestion of collagen peptide on collagen fibrils and glycosaminoglycans in the dermis / N. Matsuda [et al.] // J. Nutr. Scu Vitaminol. – 2006. – Vol. 52. – P. 211-215.
10. Structural correlation between collagen VI microfibrils and collagen VI bandet aggregates / C. Knupp [et al.] // J. Struct, Biol. – 2006. – Vol. 154, №3. – P. 312-326.
11. Xue S. Upregulation of collagen type 1 in aged murine dermis after transplantation of dermal miltipotent cells / S. Xue, L. Li // Climinal and Experimental Dermatology. – 2011 – Vol. 36, №7 – P. 775-781.

---

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сельская Бэла Натановна – аспирант кафедры биологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, г. Уфа.  
E-mail: selskaya-bela@yandex.ru