

LINeRASE

COLLAGEN

Золотой стандарт коллагенотерапии

Обзор научного исследования



Регистрационное удостоверение №РЗН 2021/14792 от 09.08.2024 г.
Генеральный дистрибьютор в России: ООО «Бьюти Эксперт Медикал»
Москва, Стромьинский переулок, 6 | +7 (495) 989-18-19 | info@mybex.ru

beauty
expert

Краткий обзор исследования

М.А.Моржанаева¹, Е.В.Свечникова^{2,3}, Ю.Ю. Бабин⁴, О.В.Старкина⁴

1. ООО «Бьюти Эксперт Медикал», Москва

2. ФГБУ «Поликлиника №1» УДП РФ Москва

3. Медицинский институт непрерывного образования ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», Москва

4. ООО «Мелситек», генетическая лаборатория «Melsytech Genetics», Нижний Новгород

Введение

Коллаген – основной белок дермы. Его биосинтез происходит разными типами клеток: фибробластами, остеобластами. Процесс начинается с транскрипции гена или генов и созревания мРНК. Предшественником коллагена является проколлаген, который содержит два пептидных остатка: один N-концевой и один C-концевой. Трансляция происходит на уровне рибосом, вблизи стенки RER (шероховатой эндоплазматической сети), и образующаяся проколлагеновая цепь подвергается удалению сигнального пептида и гидроксигированию специфических остатков пролина и лизина до гидроксипролина и гидроксилизина (гидроксилазой, с витамином С в качестве незаменимого кофактора) с продукцией альфа-цепей проколлагена. Три из этих цепей скручиваются вместе, образуя тройную спираль, стабилизированную необычными ковалентными связями между гидроксигированными аминокислотами (поперечными связями). Эта спираль проходит в аппарат Гольджи, где завершается гликозилирование, и отсюда через секреторные пузырьки выходит наружу, где подвергается действию некоторых пептидаз проколлагена, которые удаляют N-концевые и C-концевые остатки, превращая проколлаген в тропоколлаген. Молекулы тропоколлагена располагаются параллельными рядами, образуя фибриллы. Наконец, фибриллы могут образовывать волнистые или параллельные пучки, образуя волокна, а волокна могут образовывать пучки волокон.

Большинство работ, опубликованных в последние годы, продемонстрировали положительное влияние коллагена на клинические признаки старения кожи. Использование коллагена в качестве пищевой добавки имеет долгую историю; однако лишь немногие исследования рассматривали инъекционные формы коллагена в клеточной и молекулярной биологии клеток кожи, которая могла бы пролить свет на результаты клинического улучшения. Данное исследование, посвящено оценке экспрессии генов, после воздействия препаратами коллагена на культуру фибробластов [1].

Цель исследования: оценить жизнеспособность и пролиферативную активность фибробластов, а также экспрессию генов (коллаген первого типа (COL1), эластин (ELN), матриксная металлопротеиназа 1-го типа (MMP1), матриксная металлопротеиназа 3-го типа (MMP3) и верзикан (VCAN)) после воздействия препаратов коллагена (Collast micro, Linerase, Nithya, Collapro30+, Collapro45+ и Collapro55+).

Методы. Для измерения жизнеспособности, пролиферации и цитотоксичности клеток использовался стандартный МТТ-тест. Экспрессию генов измеряли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (RT-rtPCR).

Результаты. При визуальном наблюдении через 24 часа инкубации с препаратами коллагена не всегда клетки формировали монослой (Рис. 1). Например, препараты линейки Collapro (Рис. 1. Д-Ж), видимо, подавляли метаболизм фибробластов, что приводило к снижению скорости их деления. Для препаратов Collast и Linerase такого эффекта не наблюдалось (Рис.1 Б, В). Из-за наличия крупных частиц коллагена в растворе, мы испытывали сложности при визуализации клеток, инкубированных с препаратом Nithya (Рис. 1 Г).

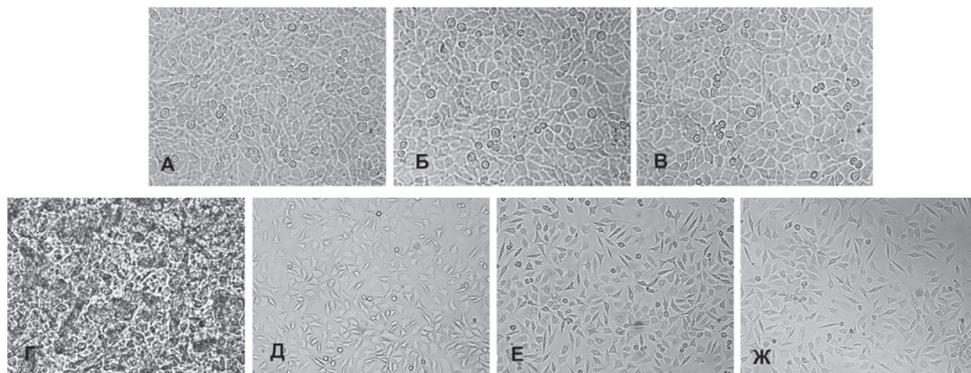


Рис. 1. Микрофотографии фибробластов линии L929 через 24 часа после инкубации с препаратами коллагена в концентрации, рекомендованной для использования производителем: А – 0,9% NaCl (контроль), Б – Collast, В – Linerase, Г – Nithya, Д – Collapro 30+, Е – Collapro 45+, Ж – Collapro 55+

Полученные результаты подтвердились при проведении МТТ-теста. Согласно полученным данным, наибольшая пролиферативная активность наблюдалась для фибробластов, инкубированных с препаратом Collast (Рис. 2). Статистически значимое увеличение метаболической активности клеток при добавлении препарата Collast в среду наблюдалось при использовании его в низких концентрациях (при 6,25% и 3,125% $p < 0,05$ и при содержании 1,552% препарата в среде – $p < 0,001$), но и в образцах, где присутствовало 25% препарата, метаболическая активность

клеток была статистически значимо выше ($p < 0,05$), в то время, как все остальные препараты, за исключением Linerase, подавляли метаболизм клеток при содержании в культуральной среде 25% и выше (Рис. 2).

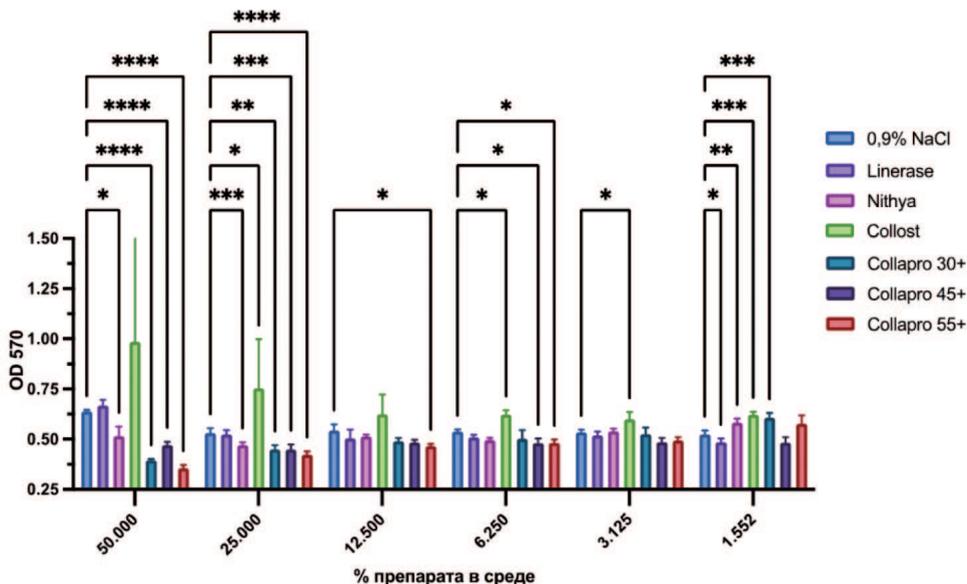


Рис. 2. Метаболическая активность фибробластов линии L929, оцененная колориметрически с помощью МТТ-теста после инкубации с препаратами коллагена в разной концентрации (статистика: многофакторный дисперсионный анализ, критерий Даннета для множественных сравнений, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$)

При исследовании препаратов в МТТ-тесте мы выявили следующую тенденцию: эффективность исследуемых препаратов находится в обратной зависимости от концентрации коллагена в конечном растворе, что подтверждается другими исследованиями [2].

При использовании в низких концентрациях статистически значимое увеличение метаболической активности клеток наблюдалось при добавлении в среду препарата Collost (при 6,25% и 3,125% $p < 0,05$ и при содержании 1,552% препарата в среде – $p < 0,001$). Также в образцах, где присутствовало 25% препарата, метаболическая активность клеток также была статистически значимо выше ($p < 0,05$), что говорит о сохранении высокой дозировки коллагена даже при разведении препарата и о высокой способности стимулировать фибробласты к пролиферации при снижении концентрации препарата Collost.

Также можно сделать вывод, что при снижении концентрации препаратов, их эффективность на клеточной линии растет (рис 1). При соотношении препаратов в среде 1.552 Linerase достоверно ниже контроля (не стимулирует рост клеток),

препараты Nithya, Collost, Collapro30+ достоверно выше контроля (стимулируют рост клеток), Collapro45+ и Collapro55+ находятся на равном уровне с контролем (рис 1).

2. Метод измерения экспрессии генов весьма чувствителен и позволяет говорить о тенденции даже при отсутствии статистической значимости (Табл.1-2). Так для препарата Linerase через 48 часов наблюдается более высокая экспрессия коллагена по сравнению с остальными препаратами (рис 3).

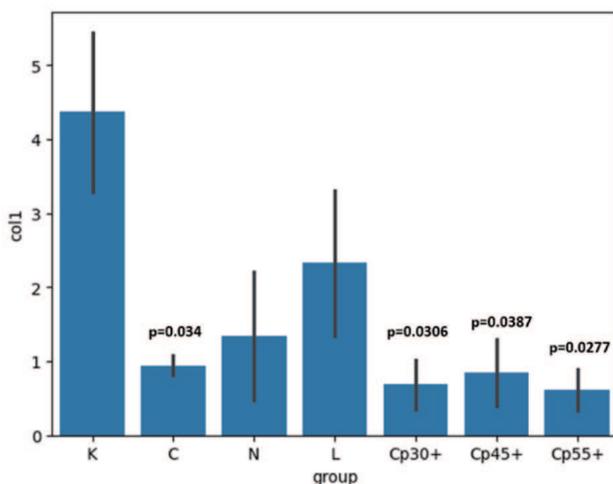


Рис.3. Относительная экспрессия коллагена первого типа, 48 часов после инкубации. На рисунке указаны значения $p < 0.05$ относительно контроля.

Название	Количество коллагена во флаконе, мг	col1a1	mmp1	mmp3	vcan	eln
Collost	150 мг	***	*	-	*	-
Linerase	100 мг	****	*	-	*	-
Nithya	70 мг	****	*	-	*	-
Collapro30+	100 мг	**	*	-	****	-
Collapro45+	150 мг	*	*	**	***	-
Collapro55+	200 мг	***	****	***	****	-

Таб.1 Сравнительная характеристика экспрессии генов (коллаген первого типа (COL1), эластин (ELN), матриксная металлопротеиназа 1-го типа (MMP1), матриксная металлопротеиназа 3-го типа (MMP3) и верзикан (VCAN)) после воздействия препаратов коллагена (Collost micro, Linerase, Nithya, Collapro30+, Collapro45+ и Collapro55+) через 24 часов

Название	Количество коллагена во флаконе, мг	col1a1	mmp1	mmp3	vcan	eln
Collost	150 мг	**	*	-	*	-
Linerase	100 мг	****	****	-	***	-
Nithya	70 мг	***	*	-	*	-
Collapro30+	100 мг	**	*	-	**	***
Collapro45+	150 мг	*	*	-	****	****
Collapro55+	200 мг	*	*	-	**	**

Таб.2 Сравнительная характеристика экспрессии генов (коллаген первого типа (COL1), эластин (ELN), матриксная металлопротеиназа 1-го типа (MMP1), матриксная металлопротеиназа 3-го типа (MMP3) и верзикан (VCAN)) после воздействия препаратов коллагена (Collost, Linerase, Nithya, Collapro30+, Collapro45+ и Collapro55+) через 48 часов

Присутствие экспрессии mmp1 и mmp3 отмечалось только в образцах, обработанных Collapro30+ и Collapro55+ (24 часа). Спустя 48 часов после обработки клеток, экспрессия гена mmp1 наблюдалась только в образце, который инкубировали с препаратом Linerase.

Также в образцах, обработанных препаратами Collapro30+, Collapro45+ и Collapro55+, верзикан экспрессируется на более высоком уровне на первые сутки исследования. В свою очередь на вторые сутки верзикан экспрессируется на более высоком уровне у препаратов Collapro45+ и Linerase.

Выводы. В заключении хотелось бы в очередной раз подчеркнуть, что препарат Linerase проявил себя как стабильный, безопасный препарат, с большими терапевтическими возможностями. Помимо того, что препарат Linerase стимулирует экспрессию гена COL1 через 24 и 48 часов, препарат также воздействует и на ген MMP1, тем самым способствуя ремоделированию дермы.

Ознакомиться с полным содержанием исследования

Список литературы:

1. Моржанаева М.А., Свечникова Е.В., Бабин Ю.Ю., Старкина О.В. Исследование пролиферативной активности и экспрессии генов (*col1a1*, *mmp1a*, *mmp1b*, *mmp3*, *vcap*, *eln*) в фибробластах после воздействия препаратов коллагена. Иммунопатология, аллергол, инфектол. 2024; 3:102-112. DOI: 10.14427/jipai.2024.3.102

2. Dierckx, S. et al. Collagen peptides affect collagen synthesis and the expression of collagen, elastin, and versican genes in cultured human dermal fibroblasts; *Frontiers in Medicine*, 2024. 11, p. 1397517. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1397517>.

beauty
expert



<https://vk.com/mybex>



<https://t.me/shopmybexru>



<https://dzen.ru/mybex>