

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

В. Зорин,^{1,2} кандидат биологических наук, руководитель отдела,

А. Зорина,¹ кандидат медицинских наук, главный врач,

В. Черкасов,¹ кандидат, химических наук, заведующий лабораторией клеточных технологий,

П. Копнин,^{1,2} кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,

Р. Деев,¹ кандидат медицинских наук, медицинский директор,

А. Исаев,¹ генеральный директор

¹ Институт стволовых клеток человека, отдел регенеративной медицины,

² НИИ канцерогенеза РОНЦ им Н.Н. Блохина РАМН,

А. Неробеев, микрохирург, пластический хирург, доктор медицинских наук, профессор,

Е. Кречина, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением функциональной диагностики,

А. Аликова, челюстно-лицевой хирург,

В. Мардахаева, кандидат медицинских наук, врач отделения функциональной диагностики,

Ф. Мустафина, кандидат медицинских наук, врач отделения функциональной диагностики, ЦНИИ стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (ЦНИИС и ЧЛХ),

А. Шилков, пластический хирург, центр пластической и эндоскопической хирургии «Ланцетъ»,

С. Донецкая, кандидат медицинских наук, врач-дерматокосметолог, клиника эстетической медицины «Леге Артис», Москва, Россия

1 ВВЕДЕНИЕ

Проблема восстановления кожи, устранения ее возрастных дефектов остается ключевой в практике врача-дерматокосметолога. Сложно найти человека зрелого возраста, который в полной мере был бы удовлетворен состоянием своей кожи, особенно на открытых участках тела – лице, шее, в зоне декольте, на руках.

Сегодня в терапевтической косметологии существуют различные подходы в борьбе со старением кожи. Сюда относятся и инъекционные методы – с использованием препаратов, родственных по биохимическому составу межклеточному веществу соединительной ткани кожи – дерме, способствующие как восполнению объема межклеточного матрикса, так и стимуляции клеток дермы (фибробластов). Не менее широкое применение нашли и безыгольные методы, связанные, в частности, с использованием лазеров, механизм действия которых основан на дозированном микроповреждении структур кожи и последующей активации в ней репаративных (включая физическую аттракцию фибробластов) процессов, сопровождающихся ощутимым улучшением состояния кожи.

Принципиально иная идеология заложена в основу методов, относящихся к области регенеративной медицины. Регенеративная медицина – отрасль современной медицины, которая занимается разработкой методов привнесения в ткани и органы индукторов физиологической и репаративной регенера-

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

ции, в частности введения в области интереса препаратов, содержащих жизнеспособные клетки, которые могут активно включаться в синтетические процессы, тем самым обеспечивая морфофункциональное восстановление тканей [1]. Эта инновационная отрасль медицины сочетает в себе несколько технологических подходов, включая заместительную клеточную терапию, тканевую инженерию и др. [2].

Кожа является наиболее «излюбленной моделью» для разработки и внедрения клеточных технологий, что обусловлено как высокой частотой ее повреждения (включая не только травму и фотоповреждение, но и естественное старение), так и наличием хорошо изученных биотехнологических подходов к естественному восстановлению этого органа. В частности, для восстановления целостности кожного покрова при поверхностных язвах различной этиологии успешно себя зарекомендовали препараты Apligraf® (США) – искусственно выращенный в специальной среде эквивалент кожи, в состав которого входят аллогенные кератиноциты и дермальные фибробласты (более 250 тыс. клинических наблюдений), и Dermagraft® (США), содержащий аллогенные дермальные фибробласты (более 50 тыс. наблюдений). А в комплексном лечении тяжелых ожогов эффективен препарат Epicel® (США), содержащий аутологичные кератиноциты (примерно 2 тыс. наблюдений) [2].

В общемировой практике эстетической медицины для коррекции возрастных изменений кожи официально признано применение клеточных технологий, основанных на использовании дермальных аутологичных фибробластов [3–7].

Еще в 1999 году в США компания Isolagen (ныне Fibrocell) опубликовала результаты масштабного клинического исследования, проведенного в 1995–1999 годах с участием 1450 пациентов с выраженными морщинами на коже лица [8]. Его результаты доказали как безопасность метода (срок наблюдений составил 24–48 месяцев), так и его эффективность. Более поздние (2003–2008 годов) многоцентро-

вые плацебо-контролируемые исследования (с участием более 800 пациентов, за которыми наблюдали 12 месяцев) показали статистически достоверное уменьшение глубины морщин, сохраняющееся в течение всего времени наблюдения [9].

С июля 2010 года применение данной технологии официально разрешено в России (технология SPRS-терапия, Институт стволовых клеток человека (ИСКЧ)) [3], а с июля 2011 года – и в США (технология LaViv™, компания Fibrocell) [4].

С 2010 по 2011 год наша научная группа применила метод SPRS-терапии (от англ. Service for Personal Regeneration of Skin) более чем у 100 пациентов. Целями настоящего исследования стали обобщение накопленных данных и анализ результатов изучения его безопасности и эффективности у 17 пациентов, которых мы наблюдали в течение года после применения SPRS-терапии. В частности, особый интерес представляет получение объективных знаний о длительности клинического эффекта, длительности синтетической активности трансплантированных аутофибробластов, а также механизмах качественных и количественных изменений, происходящих в коже человека после применения дермальных аутофибробластов.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящем клиническом исследовании принимают участие 17 пациентов (4 мужчины, 13 женщин) в возрасте 45–65 лет с признаками возрастных изменений кожи лица (наличием морщин, снижением упругости кожи).

Первый этап терапии подразумевает получение биоптата кожи, перед забором которого все пациенты прошли клинико-лабораторное исследование на исключение противопоказаний (наличие инфекционных и онкологических заболеваний, аутоиммунных заболеваний соединительной ткани, острых и хронических (в стадии обострения) заболеваний кожи).

Биоптаты размером 3–5 мм получали из заушной области под местным обезболиванием 2%-ным раствором лидокаина. Из них в условиях GMP-лаборатории выделяли фибробласты, которые затем культивировали в течение 4–6 недель [3]. Все манипуляции производили

в соответствии с разрешенной к применению медицинской технологией ФС № 2009/398 от 21 июля 2010 года [3].

В работе использовали следующие методы исследования [6].

А. Стандартизация персонального клеточного аппарата

Определение иммунофенотипа получаемых клеток выполняли с помощью проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии.

Клеточные суспензии фибробластов анализировали на проточном цитометре FACS Canto™ II с программным обеспечением FACSDiva™ (Becton Dickinson, США). В работе использовали моноклональные антитела фирмы BD Pharmingen™ (США) к маркерам гемопоэтических клеток (CD34, CD45), маркерам мезенхимных клеток (CD73, CD90, CD105), маркерам эпителиальных клеток (панцитокератины 14, 15, 16 и 19), к коллагенам I, III типов, виментину и эластину.

Актиновые филаменты выявляли с помощью флуоресцентного микроскопа AxioPlan 2 (Zeiss, Германия) с использованием родаминконъюгированного фаллоидина, клеточные ядра дополнительно окрашивали DAPI.

Определение эффективности колониеобразования (ЭКО-ф) проводили методом клонального анализа.

Б. Оценка безопасности клеточного препарата

Оценка стабильности генетического аппарата культуры фибробластов человека. Исследование проводили в два этапа. На первом этапе получали препараты хромосом. Для этого использовали обогащенную фракцию клеток, находящихся в фазе логарифмического роста. После часового гипотонического шока (50 мМ KCl) фибробласты, находящиеся в стадии митоза, собирали и фиксировали стандартным раствором метанола и уксусной кислоты. Далее полученную суспензию хромосом наносили на охлажденные предметные стекла и высушивали. На втором этапе выполняли дифференциальное окрашивание препаратов хромосом (GTG-метод). Препараты обрабатывали 0,25%-ным раствором трипсина в течение 7 мин и окрашивали красителем Гимза по стандартной методике.

Оценка онкобезопасности трансплантированных фибробластов. Для оценки онкобезопасности культуры фибробластов дермы человека использовали стандартную модель формирования опухолей под кожей у бестимусных мышей линии NUDE (n=30) одновременным подкожным введением 100 мкл суспензии фибробластов кожи (3×10^6 клеток) и опухолевых клеток человека линии HCT116 (3×10^6 клеток).

Оценка инфекционной безопасности. Клеточный материал тестировали стандартизированными методами ПЦР на наличие вирусных, бактериальных и грибковых инфекционных агентов.

В. Клинические исследования

Клинические исследования выполнены на основании разрешения Ученого совета ЦНИИС и ЧЛХ и одобрения протокола исследований Этическим комитетом ЦНИИС и ЧЛХ. В основе исследования, длительность проведения которого по протоколу рассчитана на 2 года, лежит реализация одобренной к применению Росздравнадзором новой медицинской технологии «Забор, транспортировка, культивирование, криоконсервирование, хранение и использование аутологичных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи» (ФС №2009/398 от 21 июля 2010 г.) [3].

В настоящей работе представлены результаты промежуточного (годового) этапа исследований, полученные через 1, 3, 6 и 12 месяцев после интрадермального введения пациентам аутологичных фибробластов кожи. Все участвовавшие в исследовании 17 пациентов соответствовали установленным критериям включения, перед исследованием они были ознакомлены с протоколом исследования и подписали добровольное информированное согласие.

Согласно технологии ФС №2009/398 [3], аутологичные дермальные фибробласты пациентам вводили двукратно с интервалом один месяц по 60×10^6 клеток (из расчета 20×10^6 клеток в 1 мл физиологического раствора) тоннельным способом с помощью 13-миллиметровых игл размером 30 G в кожу лица (исключая область лба) в соответствии с линиями Лангера. Предварительно на кожу лица наносили 5%-ный анестезирующий крем ЭМЛА.

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

Инструментальная оценка состояния кожи лица

Инструментальную оценку состояния кожи лица (текстуры, эластичности, количества и глубины морщин, гемомикроциркуляции) выполняли с помощью оптической профилометрии, кутометрии, фотометрической системы VISIA, лазерной доплеровской флоуметрии. Измерения проводили в параорбитальной, щечной и околоротовой областях, в шести симметричных относительно оси лица точках, характеризующихся наиболее выраженными возрастными изменениями кожи, исходно и через 1, 3, 6 и 12 месяцев после второй процедуры интрадермального введения аутологичных фибробластов кожи.

Оптическая профилометрия (PRIMOS, GF Messtechnik GmbH, Германия) – метод, позволяющий измерять глубину морщин. Принцип действия аппарата заключается в проецировании параллельных друг другу тонких полос света на поверхность кожи с помощью микрозеркал цифрового проектора. Мельчайшие различия в высоте поверхности кожи, создавая трехмерный эффект, искажают проецирование параллельных полос света, что записывается с помощью высокоскоростной камеры в виде серий изображений. Программное обеспечение прибора позволяет произвести быстрый расчет глубины морщин, более того, дает возможность провести сравнение исследуемых областей кожи в динамике, совмещая два набора измеренных в разное время данных. Измерение глубины морщин ведется с высокой точностью (разрешение 0,004 мм) в режиме реального времени без контакта с кожей и создания силиконовых реплик.

Кутометрия (Cutometer RMPA 580, Courage+Khazaka electronic GmbH, Германия) – метод, предназначенный для оценки эластичности кожи. Принцип измерений прибора основан на «всасывании» кожи с использованием вакуума. С помощью специальных кривых рассчитываются самые разные параметры, в нашем случае – основной параметр эластичности R2 (отношение между величиной остаточной деформации и максимальной амплитудой деформации кожи).

Комплексный анализ состояния кожи лица (фотометрическая система VISIA™, Proctor and Gamble, США). Аппарат позволяет провести комплексный анализ состояния кожи лица, включая текстуру кожи и количество морщин, с помощью фотографий, выполненных в обычном, инфракрасном и ультрафиолетовом световых режимах, и специального программного обеспечения.

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – метод, позволяющий оценивать кровоток в поверхностных тканях и получать интегральную характеристику микроциркуляции. Используемое для этих целей излучение гелий-неонового лазера хорошо проникает в поверхностные слои ткани. В соответствии с эффектом Доплера движение эритроцитов приводит к частотному сдвигу отраженного света, который регистрируется прибором и позволяет рассчитать удельный поток крови (расчет ведется по алгоритму Боннера). Состояние гемомикроциркуляции оценивали по ряду показателей, включая:

- показатель микроциркуляции (М), характеризующий уровень тканевого кровотока;
- коэффициент вариации (Kv), характеризующий вазомоторную активность микрососудов.

Кроме того, для оценки локального статуса кожи лица пациентов проводился *клинический анализ*. В оценке участвовали как врач-исследователь, так и сами пациенты, использовавшие для этих целей следующую 5-балльную шкалу (табл. 1).

ТАБЛ. 1. ШКАЛА КЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ КОЖИ

Эффект	Оценка в баллах
Отличный	5
Хороший	4
Удовлетворительный	3
Без эффекта	0
Отрицательный	-2

Г. Гистологическое исследование биоптатов кожи

Объектами исследования служили биоптаты, полученные из заушной области пациентов до введения им аутологичного клеточного препарата, а также взятые через 1, 3, 6 и 12 месяцев после второй процедуры (биоптаты забирали во время каждого контрольного посещения у

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

2–3 пациентов). После стандартной обработки тканевого материала (с окраской гематоксилином и эозином) выполняли:

- морфометрическую оценку среднего расстояния между придатками кожи (мкм);
- импрегнацию нитратом серебра (по Гордону) для оценки коллагеногенеза в дерме;
- иммуногистохимическое исследование с антителами Ki-67 (оценка пролиферации), CD68 (оценка фагоцитарной активности), α SMA (оценка цитоскелета пересаженных аутофибробластов) [10].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

А. Иммунофенотип культивированных фибробластов дермы

Иммунофенотипический анализ культур дермальных аутофибробластов выявил в них:

– высокий уровень экспрессии коллагенов (I, III типов), эластина и виментина (рис. 1, панель А);

– наличие маркеров (CD73+, CD90+ и CD105+), подтверждающих мезенхимное происхождение применяемых клеток (рис. 1, панель Б);

– отсутствие гемопоэтических (CD34-, CD45-) и эпителиальных (цитокератинов 14, 15, 16, 19) маркеров (рис. 1, панель В).

Анализ цитоскелета выявил характерную для клеток мезенхимного происхождения морфологию актиновых филаментов (рис. 1, Г). После трансплантации в дерму высокая биосинтетическая активность клеток сохраняется.

Б. Эффективность колониеобразования

Культуры дермальных фибробластов, полученные нами от пациентов в возрасте 45–65 лет, характеризуются довольно высокой колониеобразующей эффективностью (ЭКО-ф – 10–65%) и высоким пролиферативным потенциалом.

Известно, что в основе процессов, развивающихся в коже при старении, лежат фундаментальные изменения, ассоциированные

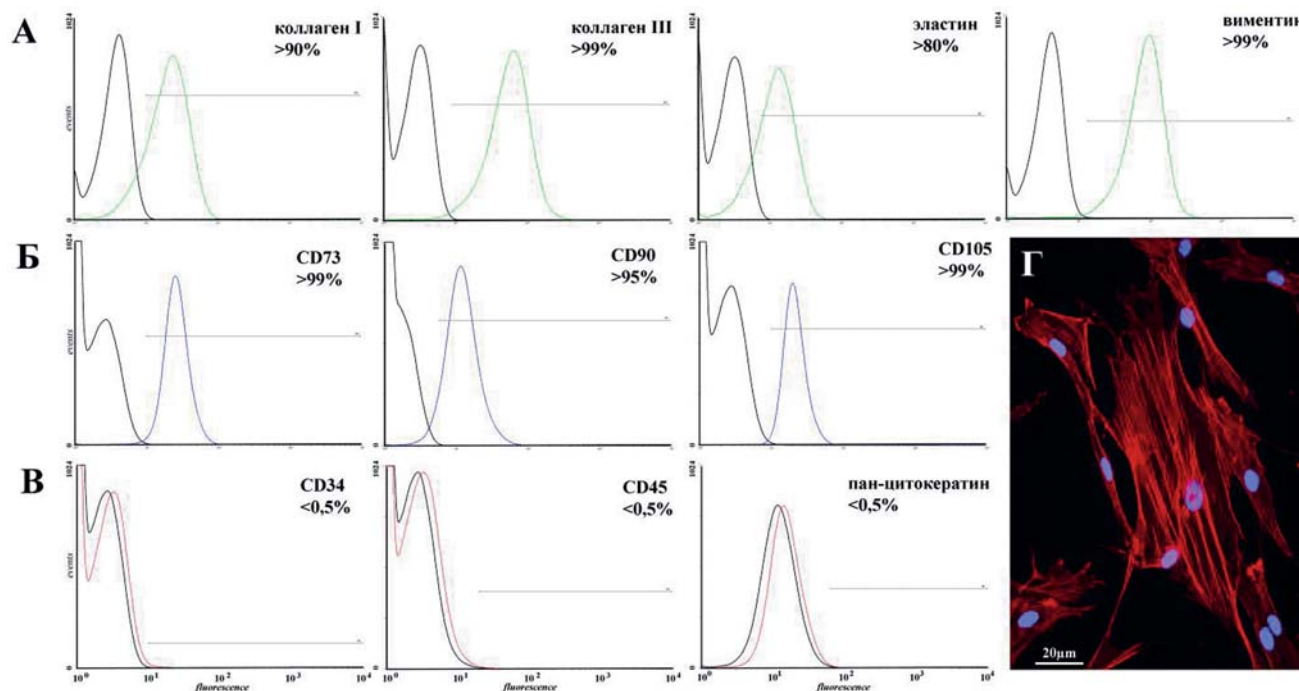


Рис. 1. Иммунофенотип дермальных фибробластов (по результатам проточной цитометрии (панели А, Б, В) и флуоресцентной микроскопии (Г))

с основной клеточной популяцией дермы – фибробластами – их количеством, морфологией, пролиферативным потенциалом, функциональной активностью [5]. Фибробласты контролируют состав и структуру межклеточного матрикса (МКМ) путем регулируемого по принципу обратной связи синтеза коллагена, эластина и основного вещества, а также путем участия в разрушении этих компонентов [11]. Соответственно нарушение физиологического баланса в этой клеточной популяции приводит к значительным изменениям как в микро-, так и макроструктуре кожи.

Проведенные *in vitro* исследования показали, что пролиферативный потенциал дермальных фибробластов взрослого человека в течение всей его жизни остается на довольно высоком уровне – первичные культуры, полученные даже от очень пожилых людей (95 лет), содержат до 14% митотически активных фибробластов [12]. Это дает возможность из небольшого биоптата кожи взрослого человека (независимо от его возраста) получить значительное количество функциональноактивных клеток.

В. Безопасность клеточного препарата

В эксперименте, проведенном на мышах для выяснения онкобезопасности применяемых в исследовании клеток, было показано, что в местах введения фибробластов кожи человека никакие неопластические процессы не регистрируются.

Цитогенетический анализ культивированных фибробластов дермы разных (4–10) пассажей, основанный на методе дифференциальноокрашенных хромосом, показал, что при использованных условиях выделения и культивирования клеток их хромосомный аппарат остается стабильным.

Таким образом, полученные нами данные подтверждают безопасность применения аутологических фибробластов дермы.

Г. Оценка состояния кожи лица

Исследование глубины морщин, выполненное методом оптической профилометрии, продемонстрировало прогрессирующее уменьшение глубины морщин во всех зонах измерения (рис. 2). Так, через 12 месяцев после примене-

ния аутофибробластов уменьшение глубины морщин по сравнению с исходным уровнем в параорбитальной области в среднем составило 97%, в щечной – 94, в околоротовой – 62%.

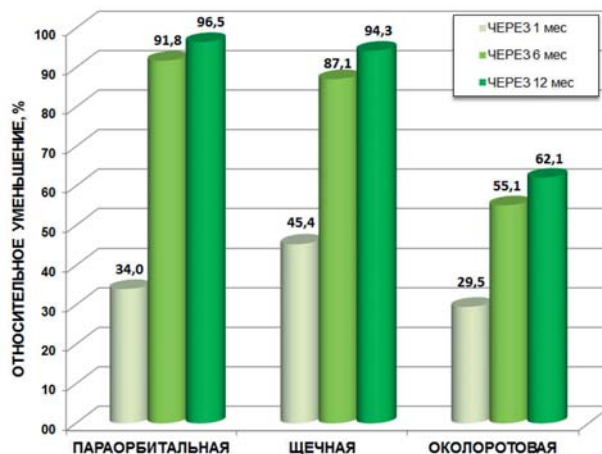


Рис. 2. Глубина морщин через 1, 6 и 12 месяцев после введения аутофибробластов. (исследования на аппарате Primos)

Менее выраженное уменьшение глубины морщин, отмеченное нами в околоротовой области, связано, по всей видимости, с анатомической особенностью этой зоны, в частности с наличием здесь активной, плотно прилегающей к коже круговой мышцы рта, которая способна оказывать значительное влияние на микрорельеф кожи лица.

Исследование эластичности кожи лица продемонстрировало прогрессирующее улучшение оцениваемых показателей во всех точках измерения, при этом максимальное увеличение эластичности кожи было отмечено в параорбитальной области, где через 6 месяцев она превысила исходное значение на 25%, после чего сохранялась практически на этом же уровне все 12 месяцев наблюдения.

В щечной и околоротовой областях также было отмечено прогрессирующее со временем, но менее выраженное, если сравнивать с параорбитальной областью, улучшение показателей эластичности. Незначительное повышение эластичности кожи в околоротовой области, возможно, связано с тем, что исходные показатели эластичности в этой зоне изначально были достаточно высоки и составляли 0,7 усл. ед., в то время как в параорбитальной – всего 0,44 усл. ед. (рис. 3).

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

Местный статус кожи лица, охарактеризованный по 5-балльной шкале, удовлетворил всех пациентов (рис. 4). Улучшение состояния кожи лица – повышение ее упругости, уменьшение рельефности, улучшение цвета

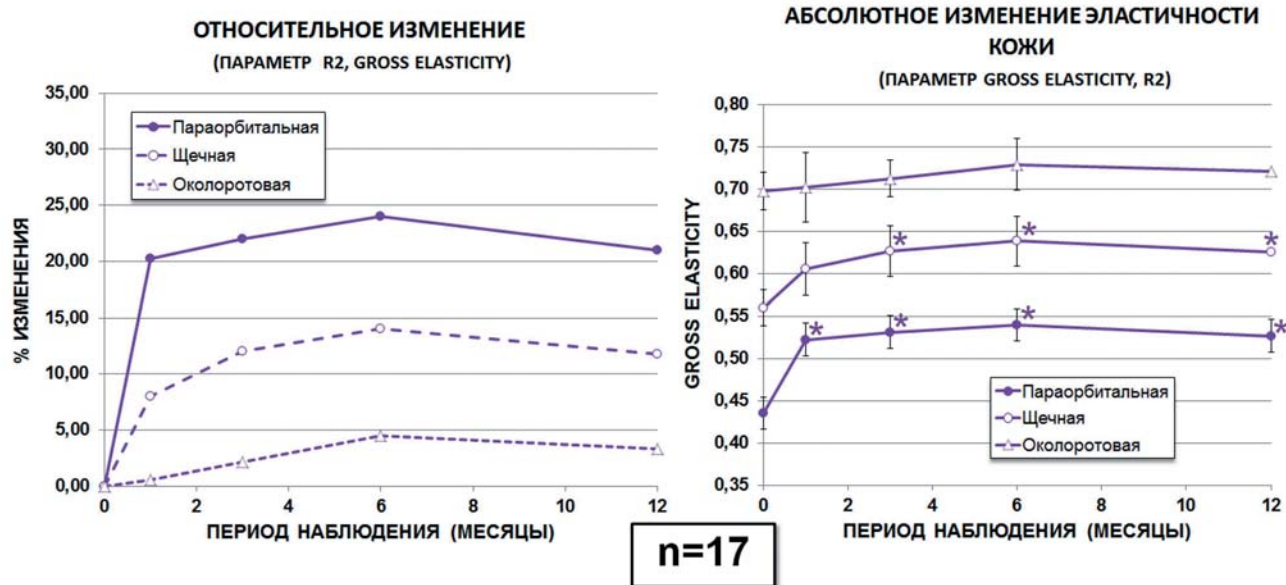


Рис. 3. Эластичность кожи через 1, 3, 6 и 12 месяцев после введения аутофибробластов дермы (параметр R2, gross elasticity)

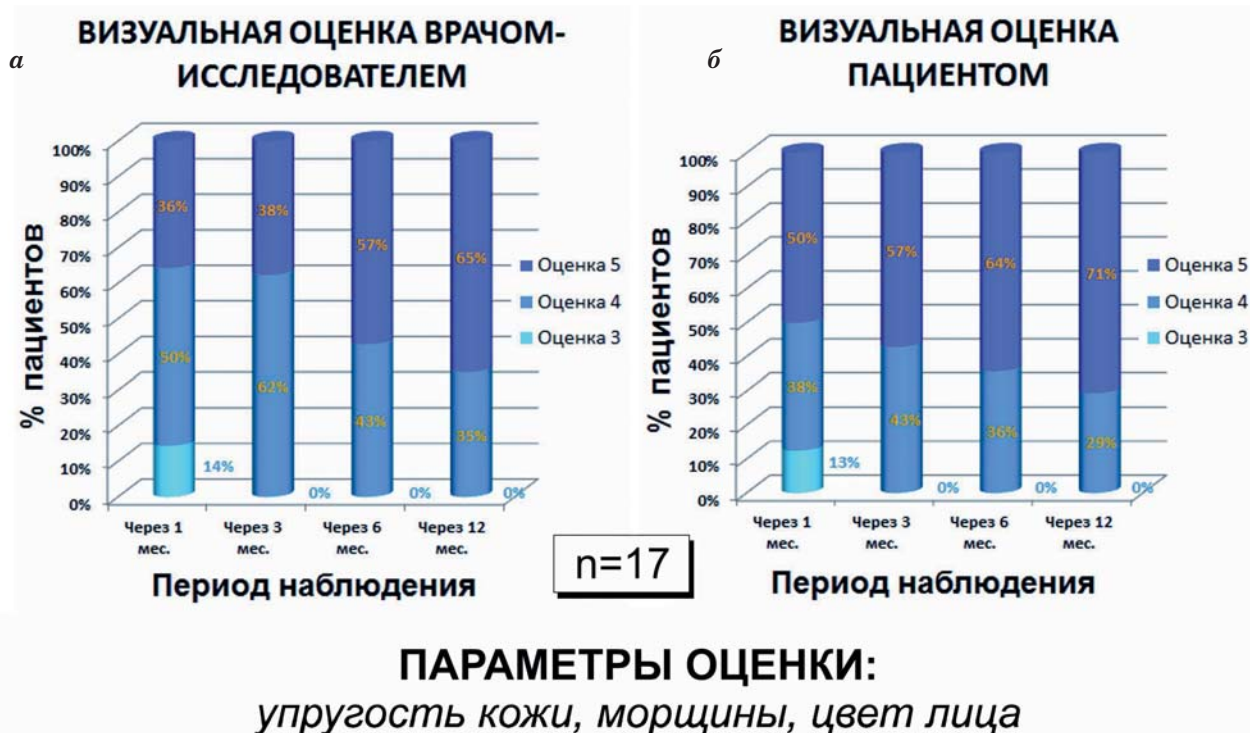


Рис. 4. Визуальная оценка состояния кожи (по 5-балльной шкале): оценка врача-исследователя (а); оценка пациентов (б)

и контуров лица – пациенты отмечают уже через 10–14 дней после окончания курса клеточной терапии. Эффект имеет нарастающий характер. Так, если через месяц на «хорошо» и «отлично» клинический результат оценили 88% пациентов, то через 3, 6 и 12 месяцев – все 100%. Оценка врача-исследователя практически совпадает с оценкой пациентов: через месяц на «хорошо» и «отлично» результат им оценен у 86% пациентов, через 3, 6 и 12 месяцев – у всех участников исследования.

Исследование гемомикроциркуляции, проведенное через месяц после применения аутофибробластов (рис. 5), выявило снижение уровня кровотока в коже лица во всех точках измерения в среднем на 35% по сравнению с исходными значениями. При этом интенсивность кровотока оставалась практически на прежнем уровне, а вазомоторная активность микрососудов кожи лица значительно повысилась. Связано это, по всей видимости, с тем, что в течение первого месяца идет активная адаптация кровоснабжения к «строительным» процессам, которые также требуют кровоснабжения, – ведь только толщина дермы за этот период увеличивается на 50%. На кровоснабжение в это время ложится неожиданная дополнительная нагрузка, и поэтому уровень кровотока снижается. Одновременное

усиление вазомоторной активности микрососудов свидетельствует о том, что параллельно идет перестройка и со стороны сосудистой системы.

Уже со второго месяца ситуация изменяется (возможно, за счет открытия еще не полностью склерозированных с возрастом сосудов), и кровоток не только восстанавливается, но вскоре уже превышает исходный уровень. Так, через 3 месяца уровень кровотока, определяемый ЛДФ, превысил исходные значения в среднем на 20%. Этот же уровень кровотока регистрировался и через 12 месяцев после применения аутофибробластов. Вазомоторная активность микрососудов кожи лица также значительно возросла, и хотя начиная с 6 месяцев она несколько снизилась, но и через 12 месяцев превосходила исходные значения в среднем на 50–55%.

Полученные данные свидетельствуют об усилении гемомикроциркуляции и активности гемодинамических механизмов регуляции кровотока кожи лица после применения культивированных дермальных аутофибробластов. Одним из объяснений этому может служить тот факт, что фибробласты активно участвуют в ангиогенезе: продуцируя множество проангиогенных факторов (VEGFs, FGFs, TGF- β 1, HGF/SF, ангиопоэтин-1), они способствуют мигра-

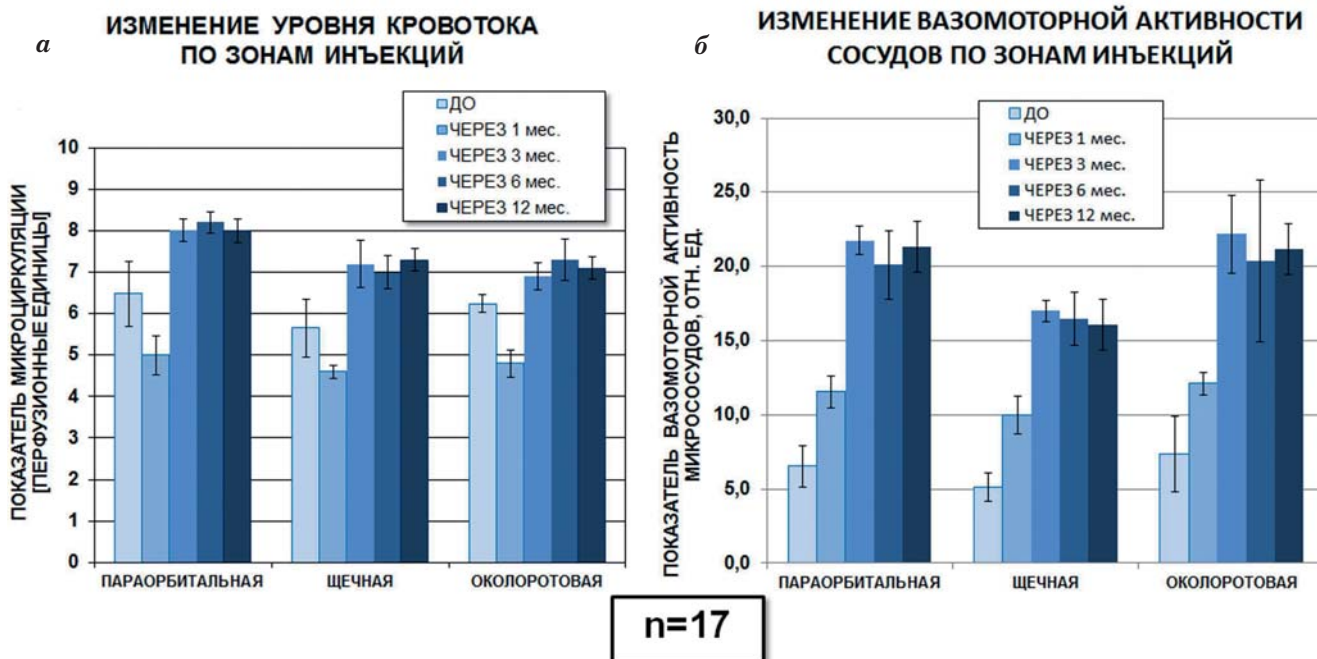


Рис. 5. Изменение показателей ЛДФ по зонам: уровень кровотока (а); вазомоторная активность сосудов (б)

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

ции и дифференцировке эндотелиальных клеток и тем самым – образованию и стабилизации сосудов [13, 14].

Комплексный анализ состояния кожи лица. Исследования, выполненные с помощью фотометрического комплекса VISIA, показали прогрессирующее улучшение текстуры кожи лица после проведенного лечения (рис. 6): через месяц в среднем на 11%, через 6 месяцев и

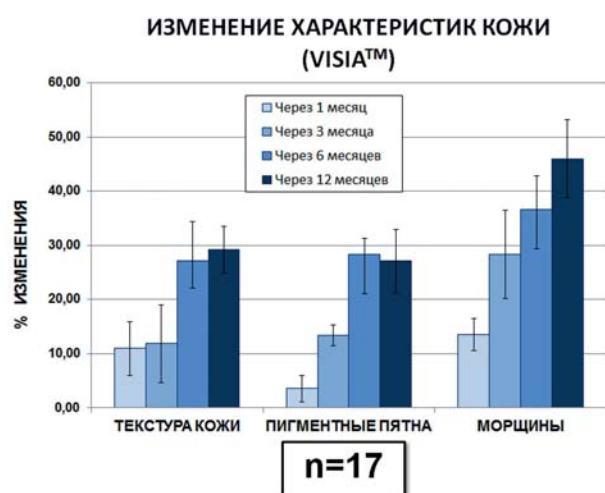


Рис. 6. Относительное изменение характеристик кожи (результаты измерений на фотометрическом комплексе Visia)

далее (до конца срока наблюдения) – на 27%.

При этом наблюдалось также прогрессирующее снижение выраженности пигментных пятен. Так, через месяц редукция пигментных пятен составила в среднем 4% по сравнению с исходным уровнем, через 6 и 12 месяцев – 28%. Механизм данного процесса до конца не изучен. Экспериментальные работы зарубежных исследователей [15], которые на трехмерной модели сконструированной кожи продемонстрировали способность дермальных фибробластов человека снижать ее пигментацию, согласуются с полученными нами результатами.

Исследования на фотометрическом комплексе VISIA позволили нам наблюдать и за динамикой изменения морщин: через месяц количе-

ство морщин по сравнению с исходным уровнем уменьшилось в среднем на 13,5%, через 6 месяцев – на 32, через 12 – на 46%.

Д. Гистологическое исследование биоптатов кожи

Проведенные нами гистологические исследования показали, что в областях введения культивированные аутофибробласты сохраняются в течение как минимум 12 месяцев (рис. 7). Причем отмечается пролонгированная синтетическая активность, выражающаяся в синте-

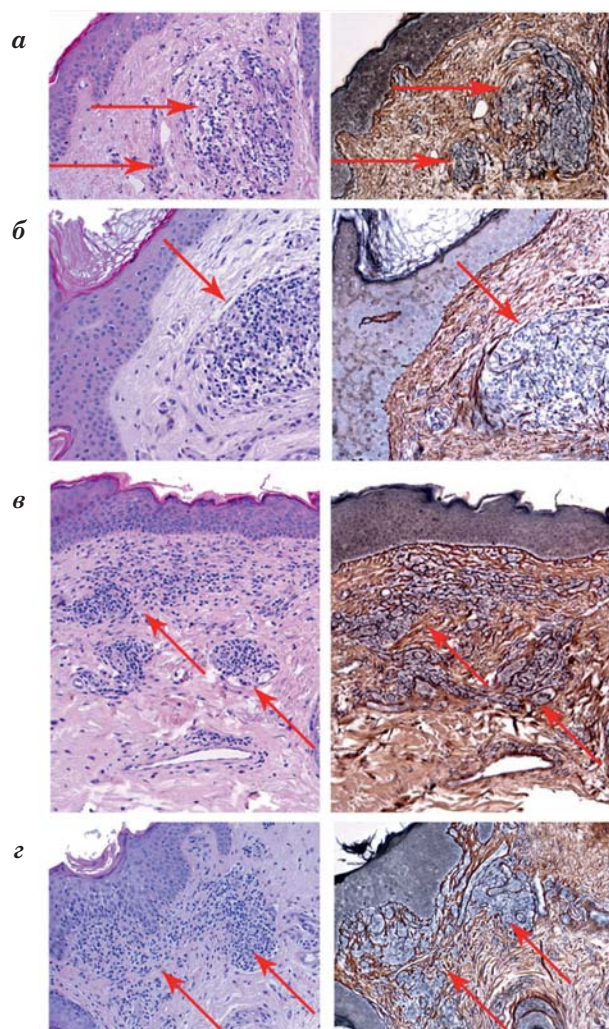


Рис. 7. Гистологическая картина среза кожи после проведения SPRS-терапии: через один (а), три (б), шесть (в) и 12 месяцев (г). Стрелками указаны группы введенных культивированных аутофибробластов. Окраска: левая колонка – гематоксилином и эозином; правая колонка – импрегнация нитратом серебра. Ув. 200X

зе молодых (аргиروفильных) коллагеновых волокон, которые выявляются как тонкие извитые черные нити внутри скоплений (групп) фибробластов (см. рис. 7). Это приводит к прогрессированию утолщения дермы, признаком чего является изменение среднего расстояния между придатками кожи (рис. 8).



Рис. 8. Относительное изменение толщины кожи после проведения SPRS-терапии (по результатам гистологических исследований)

При иммуногистохимической оценке состояния кожи после проведения курса SPRS-терапии установлено, что пересаженные клетки не пролиферировали и не претерпевали патологической дифференцировки в миофибробласты (это показано с помощью антител к Ki-67 и гладкомышечному актину (α SMA)), что минимизирует теоретический риск избыточного разрастания пересаженных клеток или формирования фиброзной ткани. Ни в одном препарате не обнаружено повышенного количества фагоцитов в дерме, их содержание в областях инъекции и рядом лежащих тканях не имело статистически значимой разницы.

По результатам гистологического исследования следует заключить, что введенные клетки сохраняют в дерме свою жизнеспособность и располагаются преимущественно группами. Их функционирование не приводит к неблагоприятным последствиям – трансформации, пролиферации, избыточному образованию коллагена и др. На всех сроках наблюдения регистрируются признаки увеличения объема и гидратации дермы, не связанные с воспале-

нием или застоем лимфы, а также синтез молодых коллагеновых волокон.

5 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные годовичные результаты наблюдений в рамках дополнительных клинических исследований свидетельствуют о безопасности и клинической эффективности применения дермальных аутофибробластов для коррекции возрастных изменений кожи.

После трансплантации в кожу биосинтетические потенциалы культивированных клеток сохраняются, и они в течение не менее 12 месяцев активно продуцируют компоненты межклеточного матрикса дермы. В результате наблюдается ремоделирование микроструктуры дермы, выражающееся в увеличении содержания в ней коллагеновых волокон, усилении гемомикроциркуляции, увеличении толщины дермы.

Клинически перечисленные изменения в микроструктуре дермы проявляются увеличением упругости, эластичности и толщины кожи, уменьшением количества и глубины морщин, улучшением цвета и контуров лица.

Литература

1. Dieckmann C, Renner R, Milkova L, Simon JC. Regenerative medicine in dermatology: biomaterials, tissue engineering, stem cells, gene transfer and beyond. *Experimental Dermatology*, 2010;19:697–706.
2. Mason C, Manzotti E. Regen: the industry responsible for cell-based therapies. *Regen Med*, 2009;4(6):783–785.
3. Исаев АА, Приходько АВ, Зорин ВЛ и др. Медицинская технология «Забор, транспортировка, выделение, культивирование, криоконсервирование, хранение и использование аутологических фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых изменений кожи». ФС№2009/308 от 21 июля 2010 г.
4. Fibrocell Science Inc. Announces FDA Approval for laV v® (azfcel-T) – http://www.fibrocellscience.com/media/2011/2011_06_22.htm
5. Зорина АА, Деев РВ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР. Старение кожи, опосредованное фибробластами. Возможность терапевтической коррекции. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*, 2011;5:43–51.
6. Зорин ВЛ, Зорина АА, Черкасов ВР. и др. Качественная и количественная оценка состояния кожи лица после

Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований

- применения аутологичных дермальных фибробластов. *Вестн Эстет Мед*, 2011;10(2):16–26.
7. Boss WK, Usal H, Chernoff G, et al. Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery. *Clin Plast Surg*, 2000;27(4):613–26.
 8. Boss WK, Usal H., Fodor PB, Chernoff G. Autologous cultured fibroblast: A protein repair system. *Ann Plast Surg* 2000; 44:536–542.
 9. Weiss RA, Weiss MA, Beasley KL, Munavalli G. Autologous cultured fibroblast injection for facial contour deformities: a prospective, placebo-controlled, Phase III clinical trial. *Dermatol Surg*, 2007;33(3):263–268.
 10. Деев РВ, Зорина АИ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР. Гистологическая характеристика кожи до и после местного ревитализирующего воздействия SPRS-терапии. *Эстет Мед*, 2011;10(3):339–348.
 11. Жукова О, Потеев Н, Стенько А, Бурдина А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клин Дерматол Венераол*, 2009;3:4–9.
 12. Байрейтер К, Франц П, Родман Х. Фибробласты при нормальной и патологической терминальной дифференцировке, старении, апоптозе и трансформации. *Онтогенез*, 1995;26(1):22–37.
 13. Supp D, Wilson-Landy K, Boyce S. Human dermal microvascular endothelial cells form vascular analogs in cultured skin substitutes after grafting to athymic mice. *FASEB J*, 2002;16:797–804.
 14. Jain R. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med*, 2003;9:685–693.
 15. Cario-Andre M, Pain C, Gauthier Y, et al. In vivo and in vitro evidence of dermal fibroblasts influence on human epidermal pigmentation. *Pigment Cell Res*, 2006;19:434–42.