

# Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи. Результаты постмаркетинговых исследований

## 1 ВВЕДЕНИЕ

Решение проблемы эффективной и безопасной коррекции возрастных изменений кожи лица и тела является одной из важных задач современной дерматокосметологии. В настоящее время в практике эстетической медицины используют целый арсенал методов, среди которых мезотерапия, биоревитализация, пилинги, фракционный фототермолиз, радиоволновая терапия, дермабразия и др. Основная цель их применения – стимуляция функциональной активности фибробластов – главного клеточного компонента дермы, отвечающего за продукцию, организацию и обновление ее межклеточного матрикса.

Особое место в этом ряду занимает метод, относящийся к регенеративной медицине, – использование культивированных фибробла-

стов, полученных из кожи самих пациентов, для коррекции ее возрастных изменений – SPRS-терапия [1]. Суть этой технологии заключается в том, что она позволяет пополнить уменьшившуюся с возрастом популяцию резидентных фибробластов выращенными в специальных лабораторных условиях молодыми функционально активными клетками, а это дает возможность эффективно корректировать возрастные дефекты кожи.

## 2 ТЕХНОЛОГИЯ SPRS-ТЕРАПИЯ

Известно, что фибробласты – клеточная основа морфофункциональной организации и гомеостаза кожи – контролируют состав и структуру матрикса путем регулируемого по принципу обратной связи синтеза коллагена, эластина и основного вещества, а также путем участия в деградации данных компонентов [2]. Именно этим клеткам принадлежит ключевая роль в нормальном функционировании дермы. Согласованная работа фибробластов с другими компонентами эпидермиса, дермы, сосудистого русла, а также регуляция микроокружения и эпителиально-мезенхимных отношений в значительной степени определяют их способность поддерживать гомеостаз кожи и реагировать на воздействие внешней и внутренней среды [3].

С возрастом в коже снижается количество функционально активных фибробластов, уменьшается их биосинтетическая актив-

**А. Зорина**, кандидат медицинских наук, главный специалист по применению клеточных технологий,

**В. Зорин**, кандидат биологических наук, руководитель отдела регенеративной медицины,

**В. Черкасов**, кандидат химических наук, руководитель лаборатории клеточных культур,

**Р. Деев**, кандидат медицинских наук, директор по науке,

**А. Исаев**, генеральный директор, Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия

## Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи. Результаты постмаркетинговых исследований

ность, нарушается баланс между процессами синтеза и деградации межклеточного матрикса, понижается содержание коллагена – основного структурного компонента дермы [4–6]. Нарушение физиологического баланса в популяции фибробластов приводит к значительным изменениям как в микро-, так и макроструктуре кожи. Внешними проявлениями этих процессов служат уменьшение толщины кожи, снижение ее гидратации и упругости, образование морщин [1].

Еще в 1995 году было показано, что введение в кожу аутологичных дермальных фибробластов (аутоДФ) способствует эффективной коррекции возрастных изменений кожи [7]. Культивированные аутоДФ активно синтезируют коллаген и другие компоненты межклеточного матрикса *in vitro*, и после трансплантации в дерму их синтетическая активность сохраняется [1].

В настоящее время применение аутоДФ для коррекции возрастных изменений кожи получило мировое признание. С июля 2010 года использование данной технологии официально разрешено в России (технология SPRS\*-терапия, Институт стволовых клеток человека) [8], а с июля 2011 года – в США (технология LaViv™ (azficel-T), компания Fibrocell Science, ранее Isolagen) [9].

**Показания** к применению аутоДФ:

- возрастные изменения кожи лица, шеи, зоны декольте, рук – снижение ее толщины, упругости и эластичности, наличие морщин;
- рубцы постакне.

**Противопоказания** к применению аутоДФ:

- острые и хронические (в стадии обострения) заболевания кожи;
- аутоиммунные заболевания соединительной ткани;
- онкологические заболевания;
- длительная (или постоянная) терапия стероидами;
- беременность, лактация.

\* SPRS (Service for Personal Regeneration of Skin) – персонализированный комплекс диагностических и лечебных процедур для восстановления кожи.

## А. Методика получения клеточного препарата

У пациента (при отсутствии противопоказаний) из заушной раковины – области, наименее подверженной повреждающему воздействию УФО-лучей, с помощью хирургического лезвия одноразового использования или дерматома под местной инфильтрационной анестезией 2%-м раствором лидокаина берут биоптат кожи диаметром 3–5 мм. Затем в лабораторных условиях класса GMP (Good Manufacturing Practice – надлежащая производственная практика) получают клеточный препарат (SPRS-препарат), содержащий культивированные аутоДФ.

В ходе клеточного процессинга происходят отбор и стимуляция только молодых функционально активных фибробластов, сохранивших высокую способность к делению и синтезу важных для кожи компонентов. Слабофункционалирующие и неспособные делиться клетки из культуры элиминируются.

Все процедуры проводят согласно разрешенной к применению Росздравнадзором РФ медицинской технологии «Забор, транспортировка, выделение, культивирование, криоконсервирование, хранение и использование аутологичных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи» (разрешение ФС № 2009/398) [8].

## Б. Характеристика клеточного препарата

Клеточный препарат представляет собой суспензию аутоДФ пациента в концентрации  $15 \times 10^6$  клеток/мл физиологического раствора для инъекций.

Иммунофенотипический анализ применяемых культур аутоДФ показал высокий (>99%) уровень экспрессии их клетками коллагенов I и III типов, эластина и виментина, а также выявил наличие в них маркеров (CD73+, CD90+, CD105+), подтверждающих мезенхимное происхождение используемых клеток, и отсутствие гемопоэтических (CD34-, CD45-) и эпителиальных (цитокератинов 14, 15, 16, 19) маркеров [1]. При этом анализ количественных показателей экспрессии белков – эластина, коллагенов I и III типов – не выявил статистически значимой ее зависимости от возраста и пола пациентов ( $p > 0,05$ ) (рис. 1). Это значит, что препарат аутоДФ всегда содержит функционально актив-

ные клетки, способные эффективно продуцировать компоненты межклеточного матрикса независимо от возраста пациента. Подтверждением служит «гистологический мониторинг» – гистологический анализ срезов кожи пациентов, регулярно выполняемый в течение года после трансплантации им аутоДФ [1].

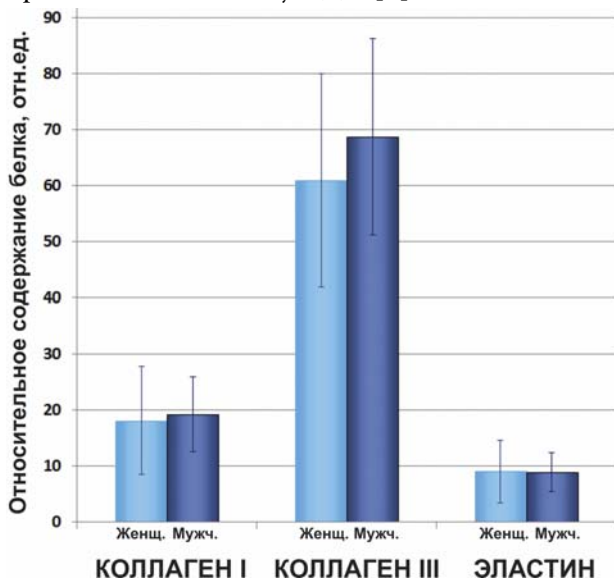


Рис. 1. Количественные показатели экспрессии белков аутологичными дермальными фибробластами

Эффективность колониобразования (ЭКОф), как показали результаты клонального анализа используемых культур аутоДФ, не зависит от возраста (возраст пациентов 45–65 лет) и характеризуется довольно высокими показателями, составляя в среднем  $45,0 \pm 9,5\%$  [10–12]. Полученные нами данные совпадают с данными немецких исследователей, которые продемонстрировали, что пролиферативный потенциал фибробластов дермы 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 [13].

Известно, что фибробласты – гетерогенная клеточная популяция, включающая весь фибробластический дифферон – от мультипотентной мезенхимной стромальной клетки, прогениторных клеток (клеток-предшественниц) и дифференцированных фибробластов до конечно дифференцированного фиброцита [14]. Это означает, что в коже каждого человека присутствуют стволовые/прогениторные клетки, которые в культуре способны образо-

вывать колонии – клоны клеток, состоящие из 20–50 и более клеток (рис. 2), благодаря чему из небольшого биоптата кожи взрослого человека независимо от его возраста можно получить необходимое для проведения терапии количество функционально активных фибробластов.

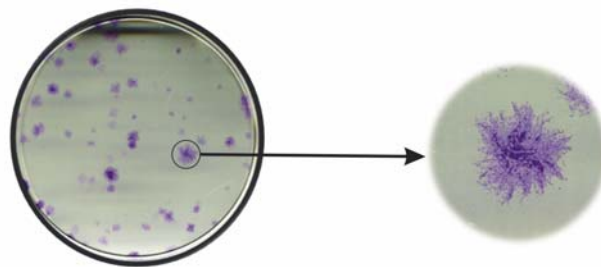


Рис. 2. Эффективность колониобразования (ЭКОф). Слева колонии выросших фибробластов, справа – одна из колоний при большем увеличении

Эффективность колониобразования фибробластов (ЭКОф) отражает отношение выросших колоний (клонов, состоящих из 20 и более клеток) к числу эксплантированных клеток. На основании этой величины (в пересчете на массу биоптата) можно получить представление о количестве стволовых/прогениторных клеток в коже каждого человека. Исследования показали, что ЭКОф – генетически предопределенная величина, не зависящая от возраста [15]. Она позволяет судить о регенераторном потенциале дермы (способности популяции фибробластов поддерживать гомеостаз ткани и восстанавливать ее при повреждении) каждого конкретного человека и спрогнозировать для него оптимальное количество курсов и частоту проведения SPRS-терапии [12].

Наряду с исследованием регенераторного потенциала кожи пациента проведено также исследование пролиферативного потенциала используемых культур аутоДФ, который определяют по процентному соотношению долей плотных, диффузных и смешанных колоний в культуре фибробластов кожи пациентов (рис. 3).

Известно, что прогениторные клетки дермы (согласно результатам исследования их цитоморфологии, пролиферативного потенциала и способности синтезировать специфические цитокины и факторы роста (TGF- $\beta$ , KGF)) разделяют на три типа клеточных популяций: МФ I, МФ II и МФ III (где МФ – митотически активные фибробласты [16]). При этом клеточный пул МФ I обладает самым высо-

## Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи. Результаты постмаркетинговых исследований

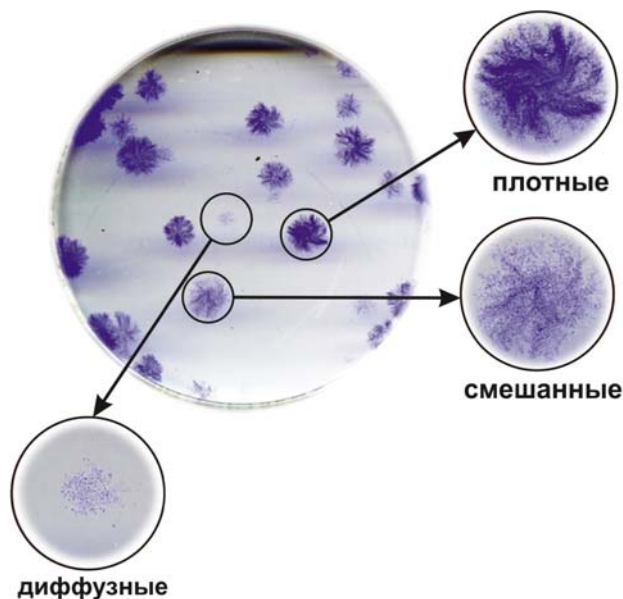


Рис. 3. Распределение колоний в культуре фибробластов в зависимости от их пролиферативного потенциала

ким пролиферативным потенциалом, его клетки проходят около 25–30 клеточных делений перед дифференцировкой в клеточную популяцию МФ II. В свою очередь, клетки пула МФ II до перехода в пул МФ III совершают около 15–20 делений, а клетки пула МФ III перед дифференцировкой в ПМФ (постмитотические фибробласты) осуществляют всего около 5–8 делений. Соответственно в культуре митотически активные фибробласты образуют 3 вида колоний: плотные, состоящие из сотен и даже тысяч фибробластов, что, по всей видимости, соответствует стадии дифференцировки МА1, диффузные, состоящие из 50–100 клеток, что, видимо, соответствует стадии дифференцировки МА3, и смешанные, состоящие из фибробластов, находящихся на стадиях дифференцировки МА1 и МА3 (рис. 4).

По количественному соотношению клеточных колоний разных типов в культуре составляют заключение о пролиферативном потенциа-

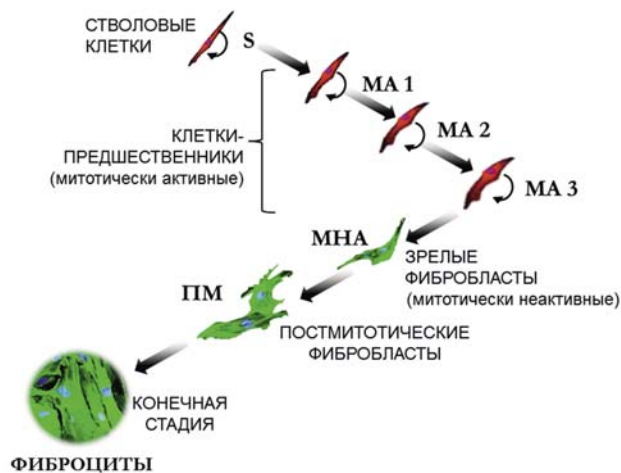


Рис. 4. Общая схема фибробластического дифференцирования дермы [14]

ле фибробластов кожи каждого пациента. При этом, чем больше в культуре плотных колоний, тем выше у этого пациента пролиферативный потенциал популяции ДФ и соответственно чем больше в культуре диффузных колоний, тем ниже пролиферативный потенциал популяции фибробластов его кожи.

Знание величины пролиферативного потенциала фибробластов дермы имеет большое значение. Во-первых, это существенно для организации технологического процесса получения препарата аутоДФ, поскольку позволяет рассчитать сроки процессинга клеточного препарата для каждого конкретного пациента. Во-вторых, может помочь врачу-косметологу прогнозировать выраженность клинического эффекта у того или иного пациента после применения какой-либо интрадермальной процедуры. Возможно, именно содержание клеток-предшественниц в дерме и их способность к пролиферации определяют выраженность клинического эффекта у разных пациентов одного пола и одной и той же возрастной группы при получении ими одинаковых косметологических процедур (исследования в этом направлении продолжаются).

### В. Трансплантация аутоДФ в кожу

SPRS-препарат при строго контролируемых условиях (в термоконтAINERе, постоянно поддерживающем температуру +4–8° С) доставляют в клинику, где пациенту проводят курс

терапии, состоящий из двух процедур с интервалом месяц. Клеточный материал вводят по специальной методике: интрадермально – в папиллярный слой дермы, туннельным способом с помощью игл для мезотерапии (30G, 13 мм) (рис. 5). Такой метод инъекционирования позволяет равномерно с адекватной плотностью ввести препарат во всей области, требующей коррекции, и пополнить пул резидентных фибробластов кожи пациента функционально активными клетками.

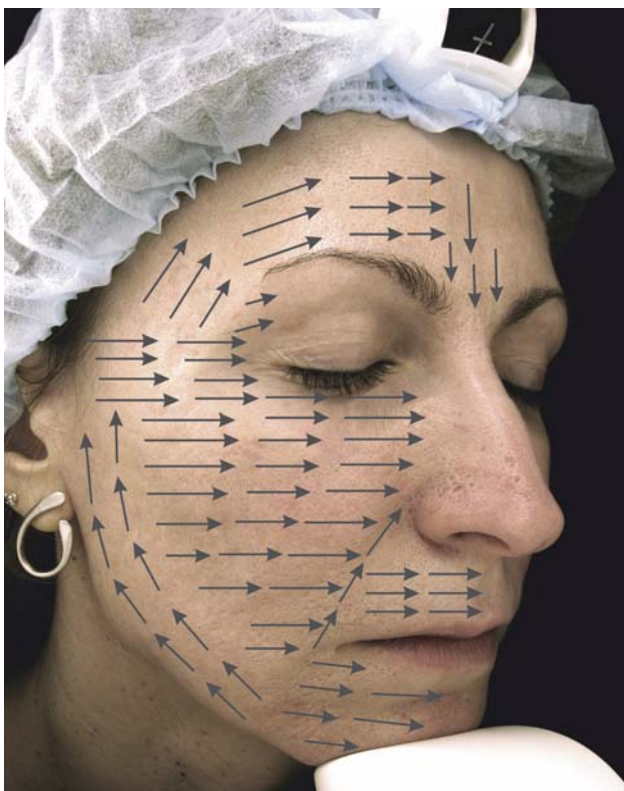


Рис. 5. Схема введения аутоДФ

За час до проведения процедуры на кожу наносят анестезирующий крем ЭМЛА, что делает введение препарата менее болезненным.

### 3 ПОСТМАРКЕТИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В январе 2012 года (через год после начала применения) в Институте стволовых клеток человека при участии ряда косметологических клиник Москвы (рекомендованных Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения РФ) были проведены постмаркетинговые

исследования в целях выяснения безопасности и клинической эффективности использования аутоДФ для коррекции возрастных изменений кожи. В них приняли участие 93 человека, из которых 14% – мужчины, 86% – женщины, средний возраст пациентов 48 лет.

Исследования продемонстрировали, что все применившие терапию пациенты через год после начала лечения остались удовлетворены клиническим результатом (табл. 1).

#### ТАБЛ. 1. РЕЗУЛЬТАТЫ ПОСТМАРКЕТИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИМЕНЕНИЯ SPRS-ТЕРАПИИ В РОССИИ

Показатель	Результат
Общее количество клиник	8
Количество пациентов, которым проводили SPRs-терапию	93
Количество удовлетворенных пациентов	93
Количество осложнений	0
Количество нежелательных явлений	0
Количество пациентов, неудовлетворенных результатами терапии	0
Количество врачей, неудовлетворенных результатами терапии	0
	Увеличение упругости, эластичности, толщины кожи;
Зафиксированные признаки эффективности	уменьшение количества и глубины морщин; эффект лифтинга; улучшение цвета и контуров лица

Все пациенты без исключения отметили увеличение толщины кожи и уменьшение глубины морщин, 87% – повышение упругости, эластичности и эффект лифтинга, 73% – уменьшение количества морщин (рис. 6). Не было зафиксировано ни одного случая осложнений, негативных побочных явлений. Геморрагии и кратковременная отечность (стандартные при использовании технологии и разрешающиеся самостоятельно в течение 5–7 дней) наблюдались у 41% пациентов, у 3,4% пациентов

## Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи. Результаты постмаркетинговых исследований

наблюдались единичные папулы (вероятно, вследствие индивидуальной неспецифической реакции), разрешающиеся самостоятельно в течение 2–8 недель. Более трети пациентов, применив аутоДФ для коррекции одной области кожи, обратились повторно за терапией других областей – шеи, зоны декольте, рук.



Рис. 6. Пациентка М., 54 года. Вид до (а) и через год после интрадермального введения аутоДФ (б)

Результаты проведенных постмаркетинговых исследований подтвердили безопасность и клиническую эффективность применения аутоДФ для коррекции возрастных изменений кожи, доказанную ранее многочисленными клиническими исследованиями [1, 17–19]. Клинический эффект выражается в увеличении толщины, упругости и эластичности кожи, уменьшении количества и глубины морщин, улучшении цвета и контуров лица.

Следует отметить, что медицинская технология по применению аутоДФ [8] обладает еще одной особенностью – она позволяет «банки-

ровать»\* фибробласты кожи пациента. Позже их можно в любое время разморозить и использовать как для коррекции возрастных изменений кожи, так и в случае непредвиденной ситуации – при ожогах и других повреждениях, требующих незамедлительного применения фибробластов для восстановления целостности кожного покрова. Такое «банкирование» аутологичных фибробластов кожи представляет собой своеобразную «систему биологического страхования».

## 4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на российском рынке эстетической медицины появился еще один безопасный и эффективный метод коррекции возрастных изменений кожи, основанный на уникальном биологическом механизме, позволяющем достичь выраженного и длительного клинического результата за счет применения у пациента собственных коллагенообразующих клеток.

### Литература

1. Зорин В, Зорина А, Черкасов В, Копнин П, Деев Р, Исаев А и др. Применение аутологичных дермальных фибробластов для коррекции возрастных изменений кожи лица. Результаты годичных исследований. *Эстетическая медицина*, 2012; XI(2):171–182.
2. Жукова О, Потехаев Н, Стенько А, Бурдина А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клиническая дерматология и венерология*, 2009;(3):4–9.
3. Серов В, Шехтер А. Соединительная ткань. *Функциональная морфология и общая патология*. – М.: Медицина, 1981.
4. Sorrell M, Caplan AI. Fibroblasts – a diverse population at the center of it all. *International Review of Cell and Molecular biology*, 2009;276:161–214.
5. Fisher G, Varani J, Voorhees J. Looking older: Fibroblast Collapse and Therapeutic Implications. *Arch Dermatol*, 2008;144(5):666–672.
6. Varani J, Dame M, Rittie L, et al. Decreased Collagen Production in Chronologically Aged Skin. Roles of Age-Dependent Alteration in Fibroblast Function and Defective Mechanical Stimulation. *AJP*, 2006;168(6):1861–1868.
7. Boss WK, Usal H, Fodor PB, Chernoff G. Autologous cultured fibroblasts: a protein repair system. *Ann Plast Surg*, 2000;44:536–542.

\* Банкирование – создание банка аутоДФ, для чего часть полученных из биоптата кожи пациента клеток криоконсервируют (замораживают по специальной технологии) и закладывают в именную ячейку в криобанк, где в жидком азоте они могут храниться неограниченное время.

8. Исаев АА, Приходько АВ, Зорин ВЛ и др. Медицинская технология: «Забор, транспортировка, выделение, культивирование, криоконсервирование, хранение и использование аутологичных фибробластов для коррекции возрастных и рубцовых изменений кожи». – ФС№2009/308 от 21 июля 2010.
9. <http://www.fibrocellscience.com>.
10. Фриденштейн АЯ. Клонирование стромальных клеток предшественников. В кн.: Методы культивирования клеток. – М.: Наука, 1988. С. 257–264.
11. Терехов С, Гацадзе А, Гринберг К. Клональная гетерогенность фибробластов разных тканей эмбриона человека *in vitro*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1984;(5):590–591.
12. Зорин В, Зорина А, Черкасов В, Копнин П. Способ диагностики состояния кожи пациента. Приоритетная заявка 2011140055 от 03.10.2011. Решение о выдаче патента 07.04. 2012.
13. Bayreuther K, Francz PI, Rodemann HP. Fibroblasts in normal and pathological terminal differentiation, aging, apoptosis and transformation. Archives of gerontology and geriatrics, 1992:47–74.
14. Зорина АИ, Зорин ВЛ, Черкасов ВР. Дермальные фибробласты: разнообразие фенотипов и физиологических функций, роль в старении кожи. Эстетическая медицина, 2012;XI(1):15–31.
15. Терехов С. Клональный анализ при изучении наследственной патологии. Автореф. дисс. канд. биол. наук. – М., 1984.
16. Nolte SV, Xu W, Rennekampff HO, et al. Diversity of fibroblasts – a review on implications for skin tissue engineering cells tissues organs. Cells Tissues Organs, 2008;187:165–76.
17. Watson D, Keller GS, Lacombe V, et al. Autologous fibroblasts for treatment of facial rhytids and dermal depressions. A Pilot Study. Arch Facial Plast Surg, 1999;1:165–170.
18. Келлер Г, Себастиан Дж, Лакомбе Ю и др. Сохранность инъецируемых аутологичных человеческих фибробластов. Бюл эксп биол мед, 2000;130(8):203–206.
19. 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.

**МЕРОПРИЯТИЯ**

**Журналы**

«Les Nouvelles Esthetiques»

«Ногтевой сервис»

«Эстетическая медицина»

**DVD**

Гарри Махорское искусство СПА  
Эстетическая медицина

**ЖУРНАЛЫ  
ВЫСТАВКИ  
ЛИТЕРАТУРА  
ОБУЧЕНИЕ  
НОВОСТИ**

ЭкспоМедиаГруппа «Старая крепость» представляет

# COSMOPRESS.RU

Интернет-портал для специалистов индустрии красоты

Косметология  
Эстетическая медицина  
Ногтевой сервис  
Искусство бизнеса  
СПА  
Массаж

- ✓ подписка на специализированные журналы
- ✓ профессиональная литература, мастер-классы на CD
- ✓ билеты на обучающие мероприятия

Быстрота доступа к информации  
Удобный поиск необходимых услуг  
Расширение профессиональных возможностей

**ИНТЕРНЕТ-МАГАЗИН**  
[www.cosmopress.ru/shop/](http://www.cosmopress.ru/shop/)